

# **Histologische Untersuchungen über das Samenepithel in Hodenbiopsien**

**Versuch einer qualitativen und semiquantitativen Beschreibung  
mit Hilfe einer Semidünnschnittmethode**

von

**Gerhard Multerer**

aus

**Silmbach/Inn**



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41548407\\_0015](https://archive.org/details/IA41548407_0015)

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik  
der Universität Erlangen-Nürnberg  
Direktor: Professor Dr. med. O. Hornstein

---

# **Histologische Untersuchungen über das Samenepithel in Hodenbiopsien**

**Versuch einer qualitativen und semiquantitativen Beschreibung  
mit Hilfe einer Semidünnschnittmethode**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

**Gerhard Multerer**

aus

**Simbach/Inn**

## Histologische Untersuchungen

# Über das Sarkomepithel in Hodenepitheliomen

Von Dr. med. O. P. Hornstein  
aus der Medizinischen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Druckort: Erlangen

Druckjahr: 1973

Drucknummer: 1/1973

Druckauflage: 1000 Exemplare

Druckkosten: 10,- DM



Dekan: Prof. Dr. Dr. H. Pauly

Referent: Prof. Dr. O.P. Hornstein

Tag der mündlichen Prüfung: 24. 7. 1973

## INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Einleitung

Eigene Fragestellung

Material und Methode

Definitionen verwendeter Bezeichnungen

Ergebnisse

Einteilung der Spermatogenese

Spermatogonien

Spermatocyten I. Ordnung

Spermatocyten II. Ordnung

Spermiohistogenese

Die Größe der Zellkerne

Zellteilungen

Semiquantitative Analyse des Materials

Diskussion

Vergleich der Spermatogonienomenklatur

Zusammenfassung

Literatur



## E I N L E I T U N G

Das zur Diagnose bei Hodenbiopsien herangezogene Material wird im allgemeinen nach der Fixierung in Bourinscher Lösung in Paraffin eingebettet. Die Schnitte werden mit Haematoxilin-Eosin oder PAS gefärbt. Sie weisen eine Schnittdicke von 3 - 5  $\mu$  auf. Diese Methode reicht zwar zur Beurteilung der Spermatogenese aus, doch ist es nur selten möglich, detaillierte cytologische Merkmale der Keimzellen zu erkennen. Besonders feinere Strukturen des Cytoplasmas und auch Caryoplasmas können auf diese Weise kaum dargestellt werden. CLERMONTs Einteilung der Spermatogenese beruht fast ausschließlich auf Caryoplasmamerkmalen, die im Paraffinschnitt teilweise noch ausreichend zu beurteilen sind. Cytoplasmamerkmale werden ebenso wie bei ROOSEN-RUNGE und BARLOW wahrscheinlich deshalb nicht verwendet, da eine Differenzierung cytoplasmatischer Strukturen schlecht möglich ist. Der Grund dieser Unzulänglichkeit liegt in der zu großen Schnittdicke und diese wiederum in der Art der Einbettung begründet.

Eine Möglichkeit Präparate mit geringerer Schnittdicke herzustellen, erlaubt die Einbettung mit dem Kunststoff EPON 812. Die Schnittdicke, dieser sogenannten Semidünnschnitte beträgt 1  $\mu$  und darunter die Färbung erfolgt mit Toluidinblau-Pyronin. Dieses von LUFT (1961) begründete Verfahren der Epon-Einbettung wurde von WARTENBERG (1966) modifiziert. Man kann Schnitte, die in Epon 812 eingebettet wurden und eine Dicke von unter 1  $\mu$  aufweisen zu lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen heranziehen. Allerdings sind die Färbemöglichkeiten dieser Schnitte begrenzt; nur eine Färbung mit Toluidinblau-Pyronin oder PAS ist möglich.

Mit den so gewonnenen histologischen Schnitten wird nun eine Einteilung der Spermatogenese nicht nur nach caryoplasmatischen, sondern auch nach cytoplasmatischen Merkmalen der Keimzellen und der Sertolizellen vorgenommen.

HOLSTEIN und WARTENBERG haben 1971 mit solchen histologischen Semidünnschnitten Untersuchungen am Hodenparenchym des Menschen durchgeführt. Dabei fanden sie 3 Spermatogionientypen. Die Spermatozyten und Spermatiden teilten sie nach dem Schema von CLERMONT ein. Es ist aber besonders hervorzuheben, daß bei diesen lichtmikroskopischen Untersuchungen von HOLSTEIN im Gegensatz zu früheren Beobachtungen von CLERMONT und ROOSEN-RUNGE die an Paraffinschnitten gemacht wurden, nun nicht nur Kernmerkmale sondern auch Cytoplasmamerkmale der einzelnen Zellen der Spermatogenese beschrieben werden.

Die derzeit verwendete lichtmikroskopische Einteilung der Spermatogenese nach CLERMONT (1963/1970) soll kurz beschrieben werden:

#### Sertolizellen

Die Zellgrenzen sind unscharf. Es gibt viele Variationen der Kernform. Typisch ist neben der gefältelten Kernmembran der große Nucleolus, der in zwei Zonen geteilt ist. (s. Ergebnis)

#### Spermatogonien:

1. "dark type A": Ein ovaler Kern mit tiefgefärbtem staubartigem Chromatin zeigt im Zentrum manchmal eine Vakuole. Ein bis zwei Nucleoli sind nahe an die Kernmembran angelegt.

2. "dark type B": Die runden bis ovalen Kerne dieser Zellen weisen blassgefärbtes körniges Chromatin auf. Ein bis zwei Nucleoli haften der Kernmembran an. (Die Bezeichnung "dark" bezieht sich bei 1., und 2., auf den Kern).
3. "type B": Der runde Kern ist charakterisiert durch Klumpen oder Körper von stark gefärbtem Chromatin, das auf die Kernmembran verteilt ist, am zentral gelegenen Nucleolus anhaftet, oder frei im Caryoplasma liegt.

#### Spermatocyten I. Ordnung

Die "pre-leptotene primary spermatocytes" haben Kerne mit tiefgefärbtem körnigem Chromatin, das sich an der Kernmembran und am Nucleolus anhäuft.

Während der verschiedenen Stufen der Prophase der I. Reifeteilung schwillt der Kern an und zeigt die charakteristischen Chromatinkonfigurationen dieser Stufen (Leptotän, Zygotän, etc.).

#### Spermatocyten I. Ordnung

Sind selten zu sehen. Die runden Kerne enthalten feinkörniges Chromatin mit einigen tiefgefärbten Verdichtungen.

#### Spermatiden

Können in drei großen Gruppen eingeteilt werden, die dem Verlauf der Spermioghistogenese entsprechen:

1. "GOLGI - Phase": Hier entsteht das Akrosomenkorn in der Golgi - Zone.
2. "Cap - Phase": Die Kopfkappe entwickelt sich über dem Kern.
3. "Acrosomic - Phase": Der Kern und die darüberliegende Akrosomenstruktur nimmt eine längliche flache Form an. Das Chromatin verdichtet sich. Es entsteht das Spermatozoon.

Diese drei Gruppen können zu insgesamt zwölf Stufen unterteilt werden.

Neben dieser lichtmikroskopischen Einteilung sind besonders ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE EINTEILUNGEN (VILLAR, PAULSEN, MOORE/HOLSTEIN, WARTENBERG) beachtet worden, da sich diese im Gegensatz zu den lichtmikroskopischen Untersuchungen (ROOSEN-RUNGE und BARLOW/CLERMONT) neben einer genauen Untersuchung des Caryoplasmas auch auf Cytoplasmamerkmale stützen, die nun lichtmikroskopisch, wenn auch nur in ganz groben Zügen beschrieben werden sollen. HOLSTEIN beschreibt vier Spermatogonienarten, die nur elektronenmikroskopisch differenziert werden können, VILLAR drei Typen, die selbst lichtmikroskopisch zu unterscheiden sind (Runde, flache, sowie Übergangstypen zu den "pre-leptotene primary spermatocytes"). Die Beschreibung der übrigen Zellen des Keimepithels stützt sich teils auf lichtmikroskopische Merkmale, mehr aber auf nur elektronenmikroskopisch erfaßbare Details.

#### Eigene Fragestellung

Es geht in dieser Arbeit darum, mit Hilfe der bisherigen lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Einteilungen eine neue lichtmikroskopische Aufstellung, die sowohl Caryo- als auch Cytoplasmamerkmale der Zellen des Keimepithels enthält, zu finden, die durch die Semidünnschnitte ermöglicht wird.

Außerdem soll an Hand einer grob quantitativen Analyse das Zahlenverhältnis der einzelnen Keimzellen zueinander beim nahezu intaktem, sowie bei geschädigtem Hodenparenchym bestimmt werden.

1. Für die folgende Aufstellung der Spermatogenese werden Präparate von 16 Hodenbiopsien gemischt verwendet.
2. Bei einer grob orientierenden Analyse wird das Zahlenverhältnis der einzelnen Keimzellen zueinander bestimmt.
3. Ferner wird ein nahezu normales Hodenparenchym (Fall 1) fünf pathologischen Hoden gegenüber gestellt. (Genaue Methode s. Ergebnis).

#### Material und Methode

Das für die Schnitte verwendete Gewebsmaterial stammt von 16 Hodenbiopsien. Davon ist in einem Fall das Hodenparenchym nahezu normal, in allen anderen Fällen sind mehr oder weniger schwere Parenchymschäden zu verzeichnen. Trotzdem ist es möglich, eine qualitativ einwandfreie Aufstellung der Spermatogenese zu liefern, da sich im gesamten Material alle Zellen der Spermatogenese finden, wenn auch die Verhältniszahlen auf Grund der pathologischen Veränderungen sehr unterschiedlich sind.

Tabelle des verwendeten Gewebsmaterials

| Fall | Histol.-Nr. | Alter d.Pat. | Diagnose                                                                                                                                                |
|------|-------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1    | 95-98/71    | 49           | Verschlußaspermie, nur geringer Hodenparenchymschaden, der fokal auftritt                                                                               |
| 2    | 333-338/71  | 21           | Schwerer primärer postpuberlaer Hodenparenchymschaden, tubuläre Insuffizienz, interstitielle Sklerose.                                                  |
| 3    | 299-332/71  | 33           | Schwerer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Tubulusfunktion: Depopulation, Spermiogenesestop, Auftreten von zahlreichen Degenerationsformen. |
| 4    | 223-228/71  | 34           | Schwerer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Spermatogenese: Depopulation, Spermiogeneseverlangsamung bis Spermiogenesestop.                  |
| 5    | 331-334/71  | 32           | Keine deutlichen Zeichen der tubulären Insuffizienz, leicht interstitielle Sklerosierung, subalbuginellae Tubuli z.T. atrophisch.                       |
| 6    | 37-40/71    | 47           | Primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden, Tubulus- und Leydigzellfunktion betreffend.                                                               |
| 7    | 954-957/71  | 48           | Mäßiger primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Tubulus- und Leydigzellfunktion.                                                         |
| 8    | 1340-43/71  | 33           | Starker primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Tubulusfunktion.                                                                         |
| 9    | 849-852/71  | 34           | Schwerer primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Tubulusfunktion.                                                                        |

| Fall | Histol.-Nr.  | Alter d.Pat. | Diagnose                                                                                                                               |
|------|--------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10   | 33-36/71     | keine Angabe | Geringer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Leydigzellfunktion, weniger der Tubulusfunktion.                                |
| 11   | 853-856/71   | 28           | Schwerer primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Tubulusfunktion, fokale leukocytaire Infiltrationen.                   |
| 12   | 1163-1166/71 | 29           | Schwerer primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Tubulusfunktion, fokale Anordnung degenerativer Veränderungen.         |
| 13   | 793-798/71   | 33           | Primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden vorwiegend die Tubulusfunktion betreffend: fokale Depopulation, Spermiogeneseverlangsung. |
| 14   | 1063-66/71   | 44           | Mittelschwerer postpuberaler Hodenparenchymschaden, Spermiogeneseverlangsung bes. der Spermatocyten u. Spermatiden.                    |
| 15   | 128-129/71   | 33           | Postpuberaler Hodenparenchymschaden, Depopulation, Degenerationsformen der Zellen der Spermiogenese.                                   |
| 16   | 512-513/71   | 27           | Primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden bzgl. der Tubulusfunktion.                                                                |

## Herstellung der Semidünnschnitte

Das Gewebe wird unmittelbar nach der Biopsie in kleinen Stückchen mit einer Kantenlänge von 1 mm nach folgender Vorschrift fixiert, entwässert und in den Kunststoff Epon 812 eingebettet.

### 1. Fixierung

In 6 % Glutaraldehyd in Phosphatpuffer

Gemisch: Phosphatpuffer (0,2 M) 1 Teil

Glutaraldehyd (24 %) 1 Teil

Aqua bidest. 2 Teile

Verweildauer 20 Minuten

anschließend 1 %  $\text{OsO}_4$  in Phosphatpuffer eisgekühlt 2 Stunden.

Gemisch: 2 %  $\text{OsO}_4$  1 Teil

0,2 M Puffer-Saccharose

Gemisch 1 Teil

(100 ml Puffer + 6,846 g  
Saccharose)

### 2. Entwässerung

|                              |                    |
|------------------------------|--------------------|
| 35 % Alkohol bei 4°C         | Verweild. 10 - 15' |
| 50 % " " "                   | " "                |
| 70 % " " "                   | " "                |
| 96 % " " "                   | " "                |
| 100 % " " Zimmertemp.        | " "                |
| 100 % " " "                  | " "                |
| Propylenoxid bei Zimmertemp. | 15'                |
| " " "                        | 15'                |

### 3. Einbettung

|                                              |         |                             |
|----------------------------------------------|---------|-----------------------------|
| a. fertige Eponmischung                      | 1 Teil  |                             |
|                                              |         | mischen unter dem Abzug mit |
| Propylenoxid                                 | 1 Teil  | 1 Std.                      |
| b. fertige Eponmischung                      | 3 Teile |                             |
| Propylenoxid                                 | 1 Teil  | 12 Std.                     |
| c. fertige Eponmischung in flachen Schälchen |         |                             |
| polymerisieren bei 37                        |         | 5 - 10 Std.                 |
| " "                                          | 45      | 12 Std.                     |
| " "                                          | 60      | 12 - 16 Std.                |

Die fertige Eponmischung darf nur frisch angesetzt verwendet werden: 6 Teile Epon A, 4 Teile Epon B, 1,5 - 2 % Epon-Beschleuniger DMP 30).

Aus den auf diese Weise gewonnenen Kunststoffblöcken werden die eingebetteten Gewebstückchen ausgesägt und mit UHU PLUS auf einen Aluminiumträger geklebt.

Von diesen Präparaten werden nun mit einem Ultramikrotom 1  $\mu$  dicke Semidünnschnitte angefertigt. Die Schnitte werden auf einer kleinen Wasserfläche aufgefangen, die bis zur Schneidekante des Glasmessers reicht. Von hier werden sie mit einer Platinöse zusammen mit einem kleinen Wassertropfen in ein Blockschälchen, in dem sich Färbeflüssigkeit befindet, übertragen. Bei der Färbung schwimmen die Schnitte in folgender Lösung: (WINCHESTER, ITO 1963).

A = 1 % Toluidinblau in 1 % Boraxlösung

B = 1 % Pyroninlösung

Mischverhältnis A : B = 4:1

Die Färbedauer beträgt bei 80°C (Heizplatte) etwa 5 Minuten. Überschüssige Farbstoffmengen werden durch Übertragen der Schnitte in drei Schälchen mit Aqua bidest. entfärbt. Die Schnitte überträgt man dann auf einen auf der Heizplatte liegenden Objektträger. Der Wassertropfen wird mit Fließpapier aufgesaugt, der Schnitt somit getrocknet.

Ein kleiner Tropfen CAEDAX wird auf ein Deckgläschen gebracht und dieses auf den heißen Objektträger gebracht, daß Caedax zwischen Objektträger und Deckglas fließt. Das Caedax muß sehr zähflüssig sein. Außerdem soll der Caedaxtropfen bei der Ausbreitung den Rand des Deckglases nicht ganz erreichen. Nach Abkühlung ist das Präparat fertig. Es kann sofort mikroskopiert werden.

Um die Präparate kontrastsicher zu gestalten, wurden je nach der Art des Gewebes entweder die Färbezeit auf 6 - 8 Minuten erhöht, oder das Verhältnis von A : B geändert (5:1, 6:1).

Dieses Verfahren wurde bis auf diese geringfügigen Veränderungen vollständig von HOLSTEIN und WULFHEKEL übernommen.

Die auf diese Weise hergestellten Präparate übertreffen die herkömmlichen Paraffinschnitte durch eine hervorragende Schärfe, die durch die geringe Schnittdicke und durch optimale Fixierung des Gewebes zustande kommt. Es ist hiermit möglich, lichtmikroskopisch nicht nur wie bisher Caryoplasmamerkmale zu bestimmen, sondern auch Cytoplasmamerkmale. Dadurch können die verschiedenen Zelltypen und Zellstadien der Spermatogenese wesentlich besser differenziert werden.

### Fotomethode

Die Fotos wurden mit einem automatischen Fotomikroskop "Leitz Orthomat" hergestellt.

Vergrößerung: 1000-fach (Endvergrößerung der Negative)

a) Objektiv 100-fach (Ölimmersion)

b) Zwischen- 10-fach  
vergröße-  
rung

Bei der Herstellung der Positive aus den Negativen ergibt sich eine 2,5-fache Vergrößerung. Die Fotos weisen also eine 2500-fache Vergrößerung auf.

Als Filmmaterial wird ORWO-Schwarzweißfilm 15 DIN verwendet.

Zur Erzielung besserer Kontraste werden Blau- oder Grünfilter eingesetzt. Diese Filter erhöhen den Kontrast und lassen die Fotos sehr scharf erscheinen. Da je nach Beschaffenheit der Präparate verschiedene Filter eingesetzt werden, sagt die Intensität des Schwarzweißtones der Fotos nichts aus über die wirklichen Helligkeitsunterschiede der einzelnen Merkmale der fotografierten Zellen.

Die Einteilung der Spermatogenese und deren Beschreibung erfolgte nicht mit Hilfe der Fotos sondern durch direkte Betrachtung im Mikroskop bei ca. 1000-facher Vergrößerung.

### Definitionen verwendeter Bezeichnungen:

Cytoplasma: Grundsubstanz der Zelle, Zellsaft

Cytoplasmagranula: Körnige Strukturen im Cytoplasma, die den Zellorganellen (Mitochondrien, Golgiaapparat, etc.) entsprechen, im Lichtmikroskop aber nicht zu differenzieren sind.

Cytoplasmaverdichtungen: Stellen, an denen das Cytoplasma dunkler als in der Umgebung erscheint.

Caryoplasma: Grundsubstanz des Kernes, Kernsaft

Caryoplasmagranulation: Körniges Aussehen des Kerninhalts. Ob es sich um Verdichtungen des Caryoplasmas oder um Chromatinverdichtungen der Chromosomen handelt, läßt diese Bezeichnung offen.

Chromatinverdichtungen: Dunkle Stellen im Caryoplasma, die mit Sicherheit von Chromatinverdichtungen der Chromosomen herrühren.

Spermatogenese: Entwicklung der Keimzellen vom Spermatogonium bis zum reifen Spermatozoon.

Die Spermatogenese läßt sich unterteilen:

1. Die Spermiogenese (Spermatogonium bis Spermatische)
2. Die Spermiostogenese: Ausbildung eines reifen Spermatozoons aus jungen Spermaticiden.

### Ergebnisse

#### Einteilung der Spermatogenese:

##### Sertolizellen:

Die Sertolizellen, die besonders an der Spermiostogenese beteiligt sind, sitzen der Basalmembran mit einem fußartig verbreiterten Cytoplasmafortsatz auf und erstrecken sich mit ihrem Zelleib in polygo-

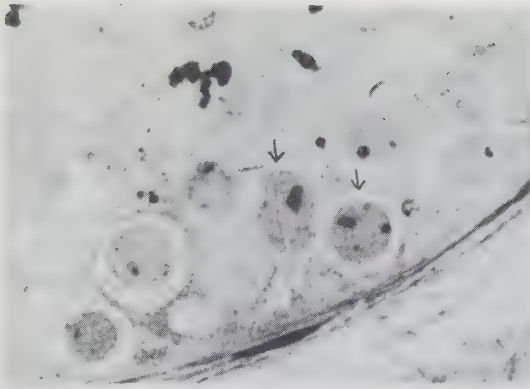
naler Form durch die verschiedenen Lagen des Keimepithels bis zum Lumen des Tubulus. Die Zellform ist abhängig von der Dichte des umgebenden Zellmaterials. Das Cytoplasma ist dunkler als das der Zellen der Spermatogenese, doch sind bei den Sertolizellen deutliche Schwankungen in der Helligkeit möglich (Abb. A). Ihre Zellgrenzen sind nicht zu erkennen. Mannigfach sind die Cytoplasmastrukturen. Häufig sieht man stäbchenförmige Elemente unterschiedlicher Dichte, die konfluieren können und oft, parallel verlaufend, lamellenartige oder fischzugartige Gefüge bilden. Außerdem treten im gesamten Cytoplasma aller Sertolizellen mancher Hoden in großer Anzahl runde, dunkel gefärbte Granula auf, die in der Größe schwanken, jedoch immer scharf begrenzt sind. Diese außerordentlich auffälligen Granula treten in Gruppen (Abb. 2) oder verstreut auf. Bei manchen Hoden finden sich diese Granula in geringerer Anzahl, oft fehlen sie nahezu. Kleinere, etwas hellere Granula hingegen sind zusätzlich immer zu registrieren. Das Cytoplasma einer Zelle weist verschiedenste Dichte auf, so daß die Grundsubstanz nie ein homogenes Bild bietet. Regelmäßig sind im Cytoplasma, stellenweise gehäuft oder vereinzelt, verschieden große Vakuolen zu beobachten. Häufig ist die Grundsubstanz des Cytoplasmas in Kernnähe in einem unregelmäßig geformten, aber relativ scharf begrenzten Bereich, auffällig aufgehellte. Insgesamt gesehen zeigt das Cytoplasma der Sertolizellen in der Grundsubstanz und den Strukturen ein polymorphes Bild.

Der Kern befindet sich fast immer in der zweiten Zelllage, ist also durch die Spermatogonien von der Basalmembran getrennt. Ein Lage-wandel konnte nicht nachgewiesen werden. Die Kernform kann rund sein, ist meist aber länglich oder stellt ein bizarres Gebilde dar. Charakteristisch ist die stark gefaltete Kernmembran, die sehr deutlich ausgeprägt ist und gelegentlich sehr tiefe, den Kern fast spaltende Einschnitte zeigt, (Abb. D, A), oder dem Kern ein gelapptes, fransiges Aussehen verleiht.

Das Caryoplasma ist meist hell und fein granuliert, doch gibt es auch Kerne mit größerem, dunklerem Cytoplasma. Beide Kernarten kommen etwa gleich häufig vor. Gelegentlich sieht man runde oder verschiedenförmige unscharf begrenzte Chromatinverdichtungen.

Ein weiteres Charakteristikum ist der mächtige Nucleolus, der in zwei Zonen zu unterteilen ist, eine runde bis ovale, scharf begrenzte, tief gefärbte, zentrale Zone (fotografisch kaum darzustellen) und eine umgebende, hellere, unscharf begrenzte Zone, deren Ausdehnung größer ist. Trotz der Polymorphie der Sertolizellen ist es nicht möglich ohne genauere Untersuchungen verschiedene Zelltypen zu differenzieren, zumal die Übergänge der Merkmale immer fließend sind. In 3 Fällen finden sich Zellen mit sehr dunklem Cytoplasma, oder solche mit relativ dunklen Kernen, die möglicherweise den Zelltyp B (JOHNSEN) darstellen. Die Kerne können dabei hell oder dunkel sein.

Beim SERTOLI CELLS ONLY-SYNDROM haben die Kerne weit weniger bizarre Formen als beim normalen Tubulus. Hier sind die meisten länglich oder rund (Abb. 3).



← S  
← Sg4

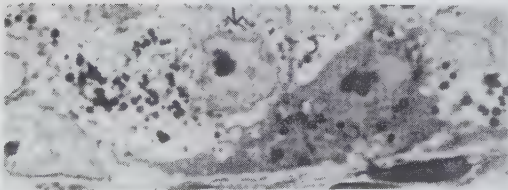
Abb. 1:

Sertolizellen, wichtigste Merkmale: Nicht deutlich sichtbare Zellgrenzen, vielfältige Cytoplasmastrukturen, Kerne mit fransigem Rand, bizarre Kernform, großer dunkler Nucleolus.

S = Sertolizelle, Sg.4 = Spermatogonie Typ 4.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin.

Vergrößerung: 2500-fach.



← S

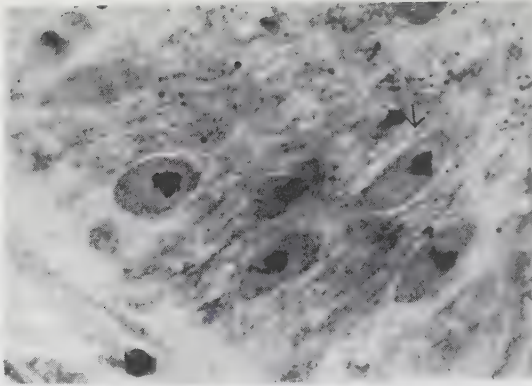
Abb. 2:

Sertolizellen: Dunkel gefärbte Granula im Cytoplasma.

S = Sertolizelle.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin.

Vergrößerung: 2500-fach



← S

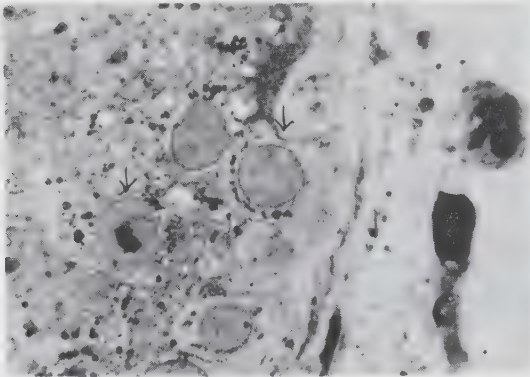
Abb. 3:

Sertolizellen: Sertoli cells only Syndrom.

S = Sertolizelle.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin.

Vergrößerung: 2500-fach.



← Sg 4

← S

Abb. 4:

Sertolizellen: bizarre Kernform der Sertolizellen

S = Sertolizelle, Sg. 4 = Spermatogonie Typ 4.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin.

Vergrößerung: 2500-fach

## Spermatogonien

Diese Zellen, die selbst im desorganisierten Tubulus immer die periphere Zellage bilden, weisen, was Cytoplasma- und Caryoplasma-merkmale, Kerngröße und Kernform betrifft, ein sehr polymorphes Bild auf. Auffällig ist, das auch bei pathologischen Hoden mit zum Beispiel stark gelichtetem Zellbestand dieses bunte Bild häufig erhalten bleibt, wenngleich sich das Verhältnis der einzelnen Spermatogonientypen zueinander verschiebt.

Die folgende Einteilung der Spermatogonien erfolgt aus cytomorphologischen Aspekt und stellt keinerlei cytodynamische Aussage dar:

Die erste Gruppe ist durch verschiedenartige Kernformen, durch dunkles Caryoplasma, und gelegentlich auch durch sehr dunkles Cytoplasma der Zellen gekennzeichnet (entspricht der "A-dark spermatogonia").

Die zweite Gruppe umfaßt Spermatogonien, deren Kerne fast immer rund sind und deren Cyto- und Caryoplasma hell ist (entsprechen "A-pale" und "B spermatogonia").

### Erste Gruppe Spermatogonien vom Typ 1:

Dieser nicht allzu häufig vorkommende Typ ist gekennzeichnet durch längliche, nierenförmige oder polygonale Kerne, deren stets dunkles Caryoplasma mehr oder weniger wolkig aussieht. Die deutliche Kernmembran ist niemals glatt, sondern immer etwas gefältelt. Der Kern enthält häufig eine Vakuole, in der sich ein Nucleolus befinden kann. Im allgemeinen liegen ein bis zwei Nucleoli der Kernmembran an. Um die Nucleoli ist das Caryoplasma manchmal aufgeheilt, was wie ein kleiner Hof aussieht. Dieses Merkmal fehlt manchmal. Auffällige Chromatinverdichtungen sind selten.

Das Cytoplasma ist zwar etwas heller als das der Sertolizellen, jedoch wesentlich dunkler als das aller anderen Spermatogonientypen. Schwankungen sind diesbezüglich möglich. Cytoplasmagranula, die die Zellorganellen darstellen (Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum, Golgiapparat, etc.), sind meist spärlich vorhanden, eher grob als fein, und treten manchmal perinucleär gehäuft auf. Ihre Zahl schwankt stark. Die Zellgranzen sind unscharf.

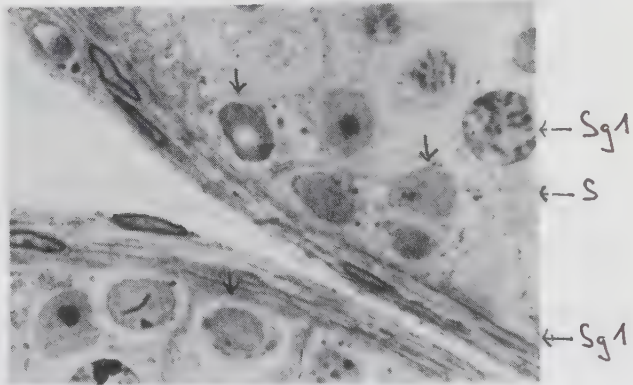


Abb. 5:

Spermatogonien Typ 1, wichtigste Merkmale: Längliche Kerne, dunkles Caryoplasma, gefaltete Kernmembran, 1 Vakuole im Kern, 1 - 2 Nucleoli an der Kernmembran, dunkles Cytoplasma, spärlich Granula darin.

S = Sertolizelle, Sg. 1 = Spermatogonie Typ 1.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin.

Vergrößerung: 2500-fach

Erste Gruppe Spermatogonien vom Typ 2:

Diese häufig vorkommenden Zellen sind dem Typ 1 in vielen Merkmalen ähnlich. Typ 2 unterscheidet sich vom Typ 1 auf folgende Weise: Die Kerne sind oval, sogar manchmal rund, die unterschiedlich dicke Kernmembran ist glatt, niemals gefältelt. Das ebenfalls dunkle Caryoplasma ist seltener wölkgig, sondern meist fein granuliert. Vakuolen im Caryoplasma treten etwas seltener auf als bei Typ 1, können aber ebenfalls einen Nucleolus enthalten. Die Nucleoli (1 - 3) findet man meistens an der Kernmembran.

Das Cytoplasma dieser Zellen ist stets heller als bei Typ 1. Cytoplasmagranula kommen in größerer Anzahl, jedoch in gleicher Formation wie bei Typ 1 vor: Vereinzelt, in Gruppen oder perinucleär gehäuft im Halbkreis um den Kern. Gelegentlich beobachtet man wie auch bei anderen Keimzellen und Sertolizellen Vakuolen im Cytoplasma. Die Zellgrenzen sind meist deutlich.

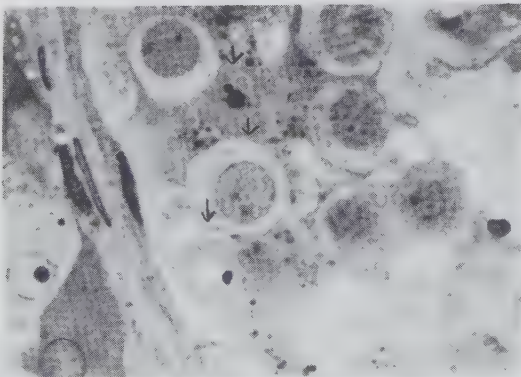


Abb. 6:

Spermatogonien Typ 2, wichtigste Merkmale: Runde bis ovale Kerne, fein granuliertes Caryoplasma, glatte Kernmembran, 1 - 3 Nucleoli meist an der Kernmembran, helles Cytoplasma mit vielen Granula und Vakuolen.

S = Sertolizelle, Sg.2 = Spermatogonie Typ 2,

Sg.4 = Spermatogonie Typ 4

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Zweite Gruppe Spermatogonien vom Typ 3:

Der Kern dieser Zellen ist rund, das Caryoplasma hell und fein granuliert. Variationen in Helligkeit und Granulation treten auf. Die Kernmembran ist gut sichtbar und immer glatt. Ein bis zwei Nucleoli, die frei von Chromatingranula und Chromatinverdichtungen sind, haften ihr an. Vakuolen im Caryoplasma wurden nicht beobachtet.

Das Cytoplasma ist stets hell. Es zeigt fast immer feine Granula, die meist in Gruppen liegen, gelegentlich auch einzeln, oder häufig deutlich perinucleär in hufeisenförmiger Konfiguration um den Kern. Die Anzahl dieser Granula und die Art ihrer Anordnung schwankt, wie bei allen Spermatogonientypen sehr stark. Die Zellgrenzen sind deutlich.

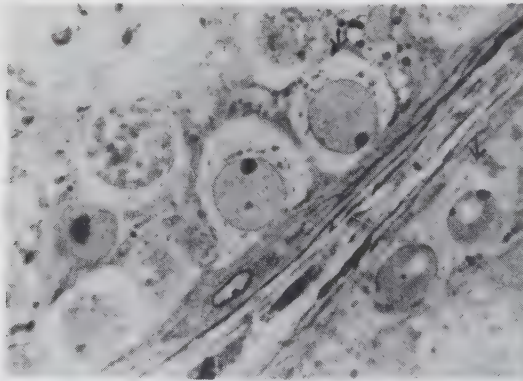


Abb. 7:

Spermatogonien Typ 3 wichtigste Merkmale: Runde Kerne, helles Caryoplasma, 1 - 3 Nucleoli meist an der Kernmembran, helles Cytoplasma.

S = Sertolizelle, Sg.1 = Spermatogonie Typ 1,

Sg.3 = Spermatogonie Typ 3.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Dieser Zelltyp kommt nicht immer in der beschriebenen Form vor. Übergangstypen zu Typ 4 sind oft zu beachten. Dabei stellt man Chromatinverdichtungen an der Kernmembran sowie im Kern fest. Die Nueleoli lösen sich manchmal schon von der Kernmembran und die Caryoplasmagranulation vergrößert sich.

#### Zweite Gruppe Spermatogonien Typ 4:

Die Kerne dieses Zelltyps sind immer rund, die Kerngröße sehr verschieden. Das helle, grob granulierte Caryoplasma enthält Chromatinverdichtungen unregelmäßiger Form, die entweder frei im Caryoplasma, häufiger an den Nucleoli und der Kernmembran, die nicht immer deutlich erscheint, massiert auftreten. Ein bis drei Nucleoli sind teils an der Kernmembran, teils im Caryoplasma gelegen.

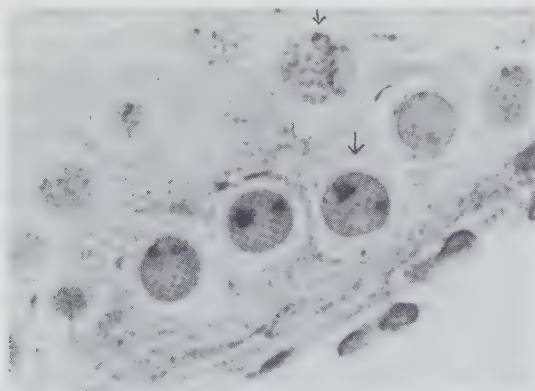


Abb. 8:

Spermatogonien Typ 4, wichtigste Merkmale: Runde Kerne, helles grob granuliertes Caryoplasma mit auffälligen Verdichtungen, 1 - 3 Nucleoli nicht immer an der Kernmembran, helles Cytoplasma, Cytoplasmagranula meist hufeisenförmig um den Kern gelagert. (Die Kerne erscheinen im Foto wegen Verwendung eines Filters dunkel). Sg.4 = Spermatogonie Typ 4, ScI 3 = Spermatocyte I.Ordnung Typ 3.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Caryoplasmaplasmavakuolen treten ab Typ 3 nicht mehr auf. Das Cytoplasma ist hell und enthält feine Granula, die oft halbkreisförmig um den Kern liegen, aber auch anders verteilt sein können. Die Zellgrenzen erscheinen deutlich, wenngleich die Kernmembran nur selten gut sichtbar wird.

Dieser Zelltyp ist durch die Chromatinverdichtungen des Caryoplasmas an der Kernmembran und den Nucleoli charakterisiert.

#### Zweite Gruppe Spermatogonien vom Typ 5:

Diese selten auftretende Zellart fällt durch enorme Kern- und Zellgröße auf. Der Kern ist rund, sein Caryoplasma meist sehr hell und deutlich granuliert. Nucleoli und Chromatinverdichtungen sind zu beobachten. Die Kernmembran ist deutlich ausgeprägt. Das Cytoplasma ist sehr hell. Granula sind wie bei anderen Spermatogonientypen in verschiedener Anzahl und Formation zu finden.

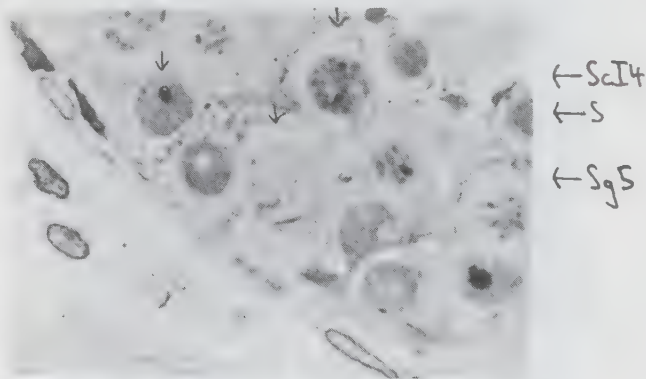


Abb. 9:

Spermatogonien Typ 5, wichtigste Merkmale: Sehr große runde Kerne, sehr helles Caryoplasma, deutliche Kernmembran, helles Cytoplasma.

Sg.5 = Spermatogonie Typ 5, ScI 5 = Spermatocyte Typ 4 I.Ordnung, S = Sertolizelle.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Die Zellgrenzen sind aufgrund des hellen Cytoplasma gut zu bestimmen.

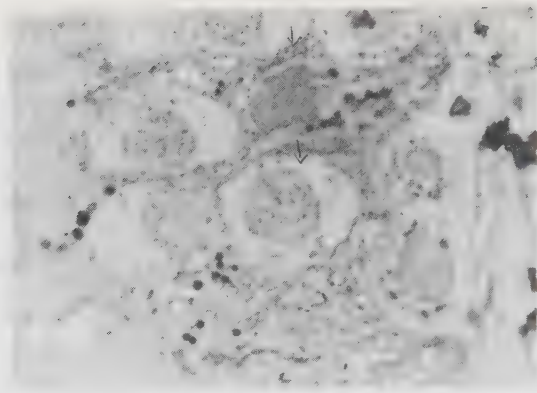
Diese Zellen können schwer von jungen Spermatocyten zu unterscheiden sein, zumal diese gelegentlich in der peripheren Lage unmittelbar an der Basalmembran liegen. Diese Spermatocyten I.Ordnung haben aber im Gegensatz zum Spermatogonientyp 5 eine sehr zarte Kernmembran und liegen meist nicht direkt der Basalmembran an. Bei den Typ 5 Spermatogonien handelt es sich möglicherweise um polyploide Zellen.

#### Spermatocyten I. Ordnung:

Durch mitotische Teilung entstehen aus den Spermatogonien Spermatocyten I. Ordnung, die sich den verschiedenen Phasen der meiotischen Prophase entsprechend in 5 Grundtypen einteilen lassen.

#### Spermatocyten I. Ordnung Typ 1:

Der Typ 1 entspricht der Zeit bis ungefähr zum Beginn des Leptotäns. Das Caryoplasma dieser Zellen erscheint grob granuliert, wobei die einzelnen Granula scharf begrenzt sind. Ansätze zu fädigen Strukturen treten bereits häufig auf. Nicht besonders imponierende Nucleoli sowie Chromatinverdichtungen innerhalb des Caryoplasmas können, wenn auch längst nicht in allen Fällen, beobachtet werden. Die Kernmembran ist sehr zart (Unterscheidungsmerkmal zu Typ 5 Spermatogonien).



← S

← ScI 1

Abb. 10:

Spermatocyten I. Ordnung Typ 1, wichtigste Merkmale:

Grob granuliertes Caryoplasma, sehr zarte Kernmembran.

ScI 1 = Spermatocyte I. Ordnung Typ 1, S = Sertolizelle.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

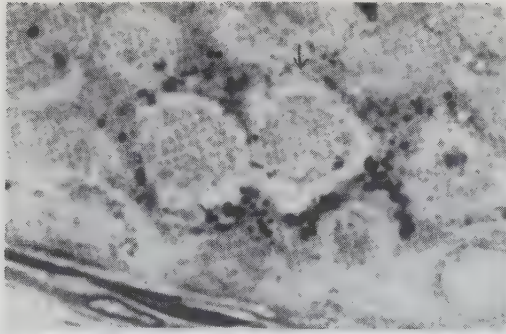
Vergrößerung: 2500-fach

Die Zellen fallen durch besondere Helligkeit des Cyto- und Caryoplasmas auf. Die runden Kerne nehmen manchmal fast die ganze Zelle ein und lassen nur einen schmalen Cytoplasmasaum frei. Cytoplasma-granula treten nur vereinzelt auf. Die Zellgrenzen sind meist relativ scharf.

Spermatocyten I. Ordnung Typ 2 L:

Dieser Typ stellt etwa das Leptotän dar. Der große runde Kern hebt sich deutlich vom hellen Cytoplasma ab. Im Caryoplasma herrschen nun dünne fädige Strukturen vor, deren Enden verdickt sein können. Auch treten hier, etwas häufiger als bei Typ 1, Nucleoli (1 - 2) auf, die an der Kernmembran oder im Caryoplasma liegen.

Das Cytoplasma ist hell, die Zellgrenzen erscheinen dadurch scharf.



← Sci 2

Abb. 11:

Spermatocyten I. Ordnung Typ 2 L, wichtigste Merkmale: Helles Caryoplasma, darin dünne fädige Strukturen.

Sci 2 = Spermatocyte I. Ordnung Typ 2.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Cytoplasmagranaula, meistens rund, aber unschärfer begrenzt als bei den Spermatogonien, finden sich ungeordnet im Cytoplasma verteilt.

Spermatocyten I. Ordnung Typ 3 Z:

Diese Zellart entspricht dem Zygotän. Die Kerne sind rund, die Kernmembran, die leicht gefältelt sein kann, ist gut sichtbar. Im Kern erscheinen grobfädige Strukturen mit manchmal verdickten Enden.

Die Caryoplasmagrundsubstanz ist wie bei allen Spermatocyten I. Ordnung (Typ 1 - 5) hell. Nucleolen verschiedener Größe sowie andere Chromatinverdichtungen sind häufig.

Im hellen Cytoplasma nimmt die Zahl der Granula, die oft recht deutlich erscheinen, im Verhältnis zu Typ 2 zu. Die Zellgrenzen sind scharf.

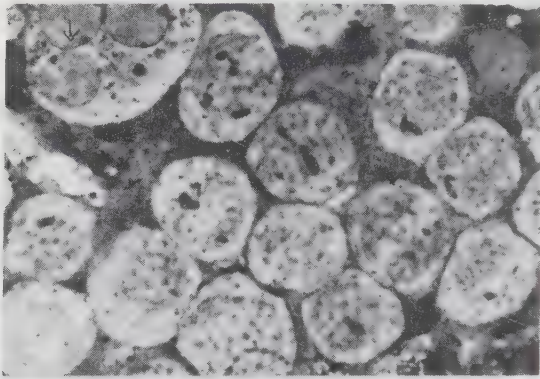


Abb. 12:

Spermatocyten I. Ordnung Typ 3 Z, wichtigste Merkmale:  
Grobfädige Strukturen mit verdickten Enden im Kern,  
Nucleoli versch. Größe, Chromatinverdichtungen, zunehmende Zahl der Cytoplasmagranula.

ScI 3 = Spermatocyte I. Ordnung Typ 3, Sp 1 = Spermatide 1. Stufe.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Spermatocyten I. Ordnung Typ 4 P:

Dieser Typ repräsentiert das Pachytän. Die Kernmembran der runden Kerne erscheint sehr deutlich und ist stets glatt. Aus den grobfädigen Strukturen von Typ 3 haben sich breite Chromatinstränge und Klumpen unscharfer Begrenzung gebildet. Sie heben sich durch ihre dunkle Färbung gut von der hellen Cytoplasmagrundsubstanz ab. Soweit erkennbar, erscheinen die Nucleoli nun größer und scharf

begrenzt. Sie sind infolge ihrer Pyroninophilie von anderen Kernstrukturen zu differenzieren. Das Cytoplasma dieser Zellen ist oft dunkler als das der vorherigen Typen und in der Dichte schwankend. Die Cytoplasmagranula nehmen zahlenmäßig weiter zu, sind nicht mehr rund, sondern oft länglich, scheinen miteinander in Verbindung zu stehen und treten perinucleär gehäuft in Gruppen auf. Die Zellgrenzen sind nicht immer scharf.

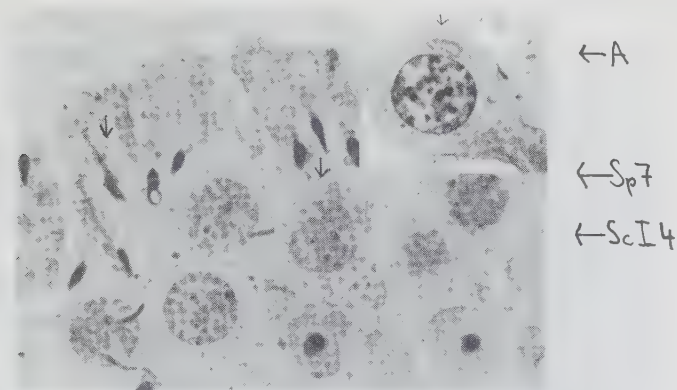


Abb. 13, 13 a:

Spermatocyten I. Ordnung Typ 4 P, wichtigste Merkmale: Breite Chromatinstränge und Klumpen, scharf begrenzte Nucleoli, oft längliche Cytoplasmastrukturen. Nur selten war bei Spermatocyten I. Ordnung eine deutlich begrenzte Cytoplasmaverdichtung sichtbar, die nach FERNER als Akrosomen zu deuten ist (Abb. 13 a).

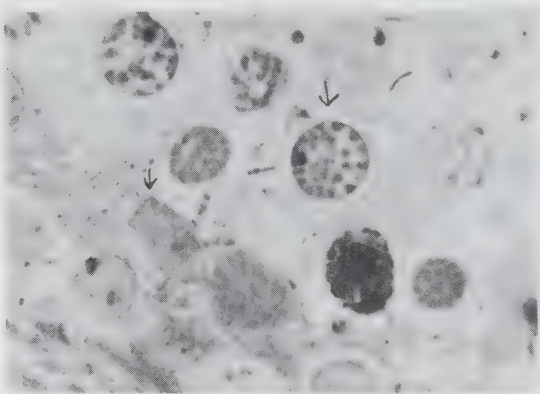
ScI 4 = Spermatocyte I. Ordnung Typ 4, Sp 7 = reifes Spermium, A = Akrosomenkorn.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Spermatocyten I. Ordnung Typ 5 D:

Dieser Zelltyp entspricht dem kurzdauernden Diplotän und der Diakinese (CLERMONT). Die deutliche, dunkle Kernmembran ist dick und gleichmäßig. An ihrer Innenseite treten kleine blockförmige bis dreieckige Chromatinverdichtungen (Chromosomenbivalenten) auf. Meist ist ein großer, scharf begrenzter Nucleolus (manchmal ein zweiter kleiner) sichtbar. Die Caryoplasmagrundsubstanz ist hell.



← ScI 5

← S

Abb. 14:

Spermatocyten I. Ordnung Typ 5 D, wichtigste Merkmale:  
Blockförmige bis dreieckige Chromatinverdichtungen an  
der Kernmembran, 1 großer dunkler Nucleolus, sehr viele  
perinucleär gehäuft auftretende Cytoplasmagranula.

ScI 5 = Spermatocyte I. Ordnung Typ 5 D, S = Sertoli-  
zelle

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Das Cytoplasma ist dunkler als beim früheren Typ. Es finden sich sehr viele Cytoplasmagranula, die oft sehr klein sind und wie bei Spermatogonien perinucleär auftreten können. Die Form dieser Granula ist verschieden. Sie liegen bisweilen so dicht, daß sie als zusammengehöriges Aggregat erscheinen. Die Zellgrenzen sind aufgrund des etwas dunkleren Cytoplasmas nicht immer besonders deutlich, aber dennoch bestimmbar.

#### Spermatocyten I. Ordnung Typ 1 - 5:

Da es sich bei der meiotischen Prophase um einen kontinuierlich ablaufenden Vorgang handelt, sind die Zelltypen nicht streng voneinander zu trennen. Sie zeigen allmähliche, fließende Übergänge von Typ zu Typ in Zwischenstufen, die die Merkmale zweier benachbarter Typen aufweisen.

Zu bemerken wäre, daß die Cytoplasmamenge im Laufe der Prophase etwas zuzunehmen scheint. Außerdem treten bei Spermatocyten I. Ordnung wieder häufiger kleine Cytoplasmavakuolen auf.

Auf die beschriebene Prophase folgen die Meta-, Ana- und die Telophase und somit die Teilung in Spermatocyten II. Ordnung, der Reduktionsteilung, die zum haploiden Chromosomensatz führt (OHNO).

#### Spermatocyten II. Ordnung

Diese Zellen sind nur in geringer Anzahl im Samenepithel nachweisbar, da sie sich sofort der 2. Reifeteilung, (Äquationsteilung) unterziehen.

Der Kern ist rund, das feingranulierte Caryoplasma gleichmäßig dunkel. Darin finden sich immer einige Chromatinverdichtungen, die sehr zarten Kernmembran oder auch dem unauffälligen Nucleolus anhaften können. Ein Nucleolus muß nicht sichtbar sein.

Das Cytoplasma ist hell und zeigt feinste fädige Strukturen schwacher Färbung, die konzentrisch um den Kern verlaufen. Zusätzlich treten im Cytoplasma einige Granula auf. Die Zellgrenzen sind nicht immer deutlich zu ziehen.

Diese Zellen sind schwer von jungen Spermatiden zu unterscheiden. Die Spermatocyten II. Ordnung liegen in der Kerngröße jedoch zwischen Spermatocyten I. Ordnung.

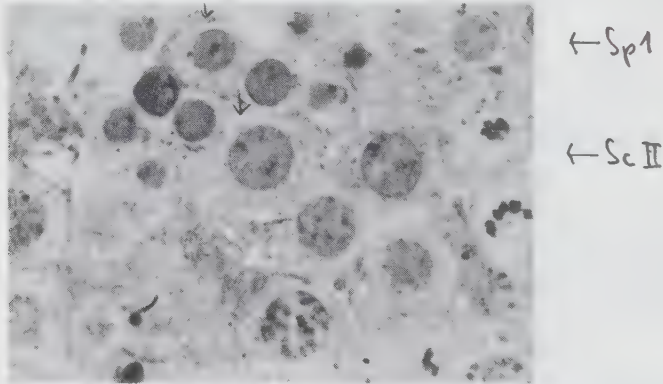


Abb. 15: Spermatocyten II. Ordnung, wichtigste Merkmale:  
Runde Kerne mit zarter Kernmembran, helles Cytoplasma mit  
fädigen Strukturen.  
ScII = Spermatocyte II. Ordnung. Sp I = Spermatide 1.Stufe.  
Färbung: Toluidinblau-Pyronin  
Vergrößerung: 2500-fach

I. Ordnung und Spermatiden erscheinen also relativ groß.  
Ein weiteres Charakteristikum für Spermatocyten II. Ordnung  
sind die feinen fädigen Cytoplasmastrukturen.

### Die Spermiohistogenese

In diesem Abschnitt, der sich unmittelbar am Cytoplasma der Sertolizellen abspielt, reifen aus den jungen Spermatiden die Spermien heran. Da hier fast ausschließlich pathologisches Material untersucht wurde, konnte dieser Vorgang nur selten in allen Details beobachtet werden, zumal oft die Spermatogenese reduziert war. Trotzdem gelang es den Ablauf der einzelnen Phasen zu verfolgen.

Es werden nun sieben Zellstufen beschrieben, die aufgrund cytologischer Kriterien im kontinuierlich ablaufenden Vorgang der Spermiohistogenese unterscheidbar sind. Die Übergänge von Stufe zu Stufe sind jedoch fließend.

### Spermatiden 1. Stufe

Junge Spermatiden, die durch Äquationsteilung aus Spermatocyten II. Ordnung entstehen, haben etwa das halbe Kernvolumen des Spermatocyten I. Ordnung. Die Kerne sind rund, ihr Caryoplasma ist homogen und gleichmäßig dunkel. Häufig sind 1 - 3 Chromatinverdichtungen, manchmal von unregelmäßiger Form, zu sehen. Ausgesprochene Nucleoli sind nicht vorhanden (FERNER).

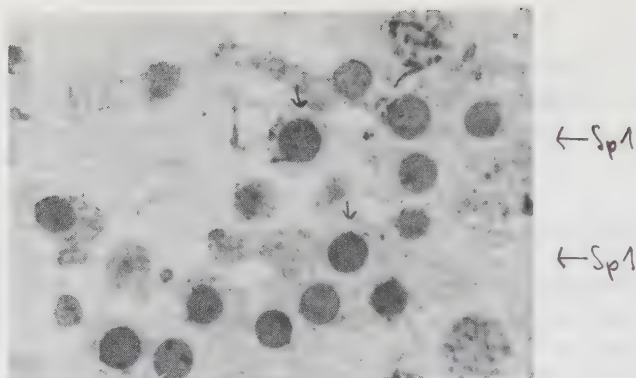


Abb. 16:

Spermatiden 1. Stufe, wichtigste Merkmale: Runde Kerne, homogenes, dunkles Caryoplasma, im hellen Cytoplasma gel. 1 Akrosomenkorn.

Sp 1 = Spermatide 1. Stufe.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Das Cytoplasma ist hell. Darin finden sich einige runde, dunkle und etwas hellere unscharf begrenzte Granula, Nur gelegentlich ist das Akrosomenkorn (CLERMONT), das viel größer und auch heller als die übrigen Granula erscheint, zu beobachten.

Das Akrosomenkorn besteht aus einer hellen Innenzone und einem oft nur teilweise vorhandenen dunklen Rand unregelmäßiger Begrenzung. Nur selten kann man Anhäufungen von Cytoplasmagranula praecrosomic granules sehen. Die Zellgrenzen sind nicht immer deutlich obwohl nur eine zarte Zellmembran sichtbar wird.

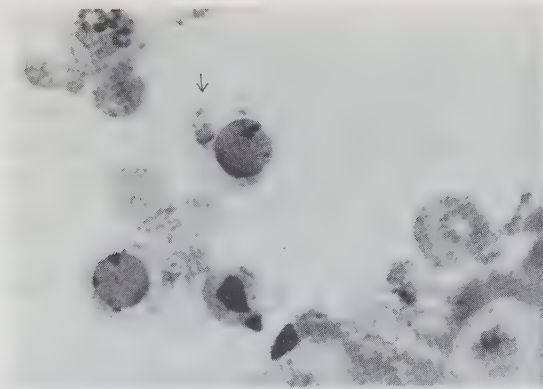


Abb. 16a:  
Spermatide 1 Stufe mit Akrosomenkorn.  
A = Akrosomenkorn.  
Färbung: Toluidinblau-Pyronin  
Vergrößerung: 2500-fach

### Spermatiden 2. Stufe

Bei dieser Zellstufe ist die sog. Akrosomenvakuole das hervorstechende Merkmal. Die Caryoplasmamerkmale entsprechen denen junger Spermatiden, doch nimmt die Zahl der Chromatinverdichtungen erheblich ab. Der runde Kern, dessen Membran deutlich erscheint, ist an einer Stelle durch die runde bis ovale Akrosomenvakuole eingedellt.

An dieser Stelle erscheint die Kernmembran dick und dunkel und zeigt in der Mitte dieses Abschnitts oft eine knotige Verdickung.

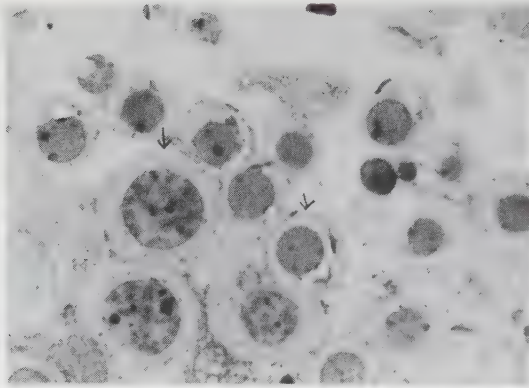


Abb. 17:

Spermatiden 2. Stufe, wichtigste Merkmale: Runde Kerne, deutliche Akrosomenvakuole.

Sp 2 = Spermatide 2. Stufe, ScI 4 = Spermatocyte I. Ordnung Typ 4.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Im Cytoplasma, das dem junger Spermatiden entspricht, treten kleine runde Granula in geringer Anzahl ungeordnet auf.

Spermatidenkerne der Stufe 1. und 2. liegen manchmal in einem Zellleib, eine Tatsache, die gelegentlich auch bei Spermatogonien der Gruppe 1 zu beobachten war.

### Spermatiden 3. Stufe

Diese Stufe bietet ein völlig neues Bild. Die inzwischen schon leicht ovalen Kerne zeigen teilweise keine Chromatinverdichtungen mehr. Aus dem deutlich verstärkten Teil der Kernmembran im Bereich der Akrosomenvakuole der 2. Stufe hat sich nun die Kopfkappe ge-

bildet. Die Akrosomenvakuole ist verschwunden. Zum Teil findet man in der Kopfkappe noch eine knotige Verdickung. Das Caryoplasma wird im Bezirk gegenüber der Kopfkappe, die etwa ein Drittel der Kernoberfläche ausmacht, zunehmend dunkler.

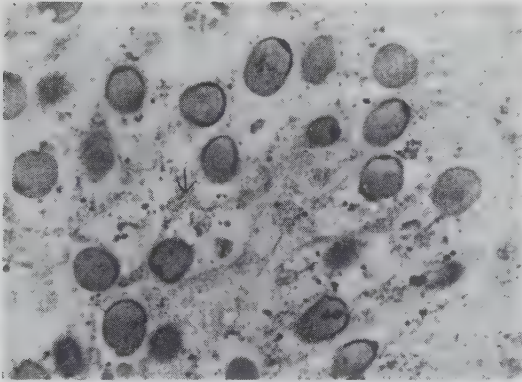


Abb. 18:

Spermatiden 3. Stufe, wichtigste Merkmale: Kerne leicht oval, periphere Lage, Kopfkappe, zum Teil noch mit knotiger Verdickung, dunkles Caryoplasma, polare Anordnung von Cytoplasmagranula gegenüber der Kopfkappe.  
Sp 3 = Spermatide 3. Stufe.

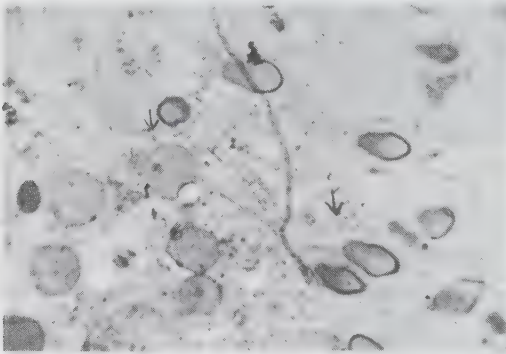
Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Das Cytoplasma dieser Zellen ist meistens sehr schwer abzugrenzen. Oft fällt eine polare Anordnung von Cytoplasmagranula gegenüber der Kopfkappe auf. Die Zellform ist etwa birnenförmig, der Kern in der Peripherie gedrängt.

#### Spermatiden 4. Stufe

Die 4. Stufe zeigt eine Abflachung des Kern hinter der Kopfkappe, deren knotige Verdickung verschwindet. Der Kern hat die Form eines Paddels (CLERMONT). Das homogene Caryoplasma wird besonders im hinteren Kernabschnitt zusehends dunkler. Chromatinverdichtungen, von einigen kleinen Punkten abgesehen, fehlen. Die Zelle ist ebenfalls paddelförmig. Das nur schwer von der Umgebung abzugrenzende Cytoplasma reicht nur noch bis zum Ansatz der Kopfkappe. Je nach Schnittführung des Präparates wird ein fadenförmiger Schwanz, der aus einer Verdickung nahe der Kernmembran gegenüber der Kopfkappe entspringt, sichtbar (4).



← Sp 2

← Sp 4

Abb. 19:

Spermatiden 4. Stufe, wichtigste Merkmale: Kerne paddelförmig bis spitz, liegen peripher, Caryoplasma zunehmend dunkler, Cytoplasma nicht abgrenzbar, fadenförmige Schwanzstruktur.  
Sp 4 = Spermatide 4. Stufe, Sp 2 = Spermatide 2. Stufe.  
Färbung: Toluidinblau-Pyronin  
Vergrößerung: 2500-fach

Das Caryoplasma verdichtet sich dann weiter und erscheint oft so dunkel wie die Kopfkappe, wenngleich sich in deren Bereich eine unscharf begrenzte Aufhellung des Caryoplasmas findet. Diese Aufhellung verschwindet gegen Ende der 4. Stufe. Auch ist dann das Cytoplasma nicht mehr abzugrenzen. Die Kerne werden vorne spitz ( $4_2$ ).

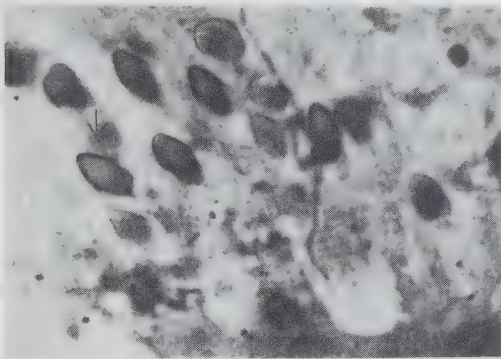


Abb. 19 a:

Spermatiden 4. Stufe:

Das Caryoplasma verdichtet sich zunehmend. (Späte 4. Stufe). Sp 4 = Spermatide 4. Stufe.

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

#### Spermatiden 5. Stufe

Die fünfte Stufe, teilweise schon die vierte Stufe, zeigt im normal organisierten Tubulus mit der Kopfkappe in Richtung Basalmembran. Der Kern ist homogen dunkel und nun wieder etwa oval. Die Kopfkappe ist vom Caryoplasma färberisch nicht zu unterscheiden. Der Schwanzfaden, der aus einer dunklen knotigen Auftreibung entspringt, ist unmittelbar nach dieser von einem feinen Ring umgeben, der ebenfalls sehr dunkel erscheint.

Weiter distal ist der Schwanzfaden noch einmal knotig aufgetrieben. Das Schwanzrohr (CLERMONT) ist bereits andeutungsweise zu sehen. Im Schnitt wird es durch zwei dünne, parallel zueinander und zum Schwanzfaden verlaufende Fäden gekennzeichnet, die am hinteren Teil des Kerns entspringen und frei im Cytoplasma enden.

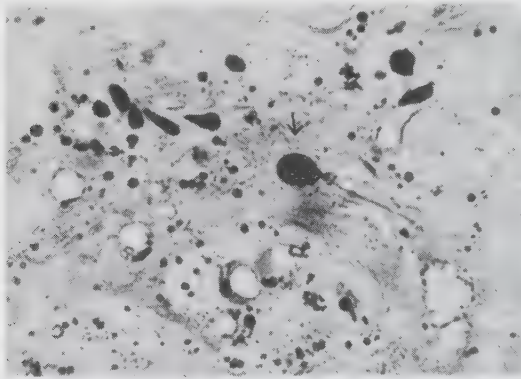


Abb. 20:

Spermatiden 5. Stufe, wichtigste Merkmale: Kern wieder oval (!), Kopfkappe färberisch vom dunklen Caryoplasma nicht mehr zu trennen, deutliche Schwanzstrukturen: Schwanzrohr, Schwanzfaden.

Sp 5 = Spermatide 5. Stufe

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Spermatiden 6. Stufe

Der Kern hat die in Stufe 5 wieder erlangte ovale Form endgültig verloren und wird wieder spitz. Der Ring um den Schwanzfaden ist noch deutlich erkennbar; auch tritt nun das Schwanzrohr, dessen Struktur bereits beschrieben wurde, besonders gut in Erscheinung. Charakteristika dieser Stufe sind die spitze Form des Kerns und das ausgeprägte Schwanzrohr.

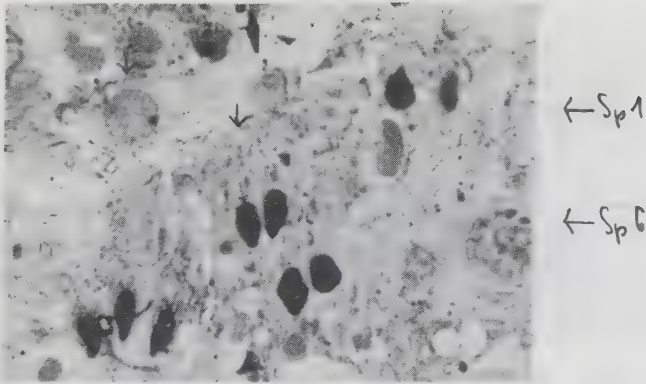


Abb. 21:

Spermatiden 6. Stufe, wichtigste Merkmale: Kern spitz, ausgeprägtes Schwanzrohr.

Sp 6 = Spermatide 6. Stufe, Sp 1 = Spermatide 1. Stufe

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Die siebte Stufe stellt die reifen Spermien dar, die den letzten Cytoplasmarest am Schwanzende als "residual body" abgestoßen haben, und sich von den Sertolizellen ins Lumen des Tubulus absetzen. Die Spermienköpfe sind etwa pfeilförmig (wie die Kerne der Stufe 6 Spermatiden). An den Kopf schließt sich anstelle des feinen Rings und des Schwanzrohres ein deutlich geformtes Mittelstück an, das heller als der Spermienkopf erscheint und vom Schwanzfaden durchzogen ist. Im Mittelstück finden sich um den Schwanzfaden dunkle Strukturen (Mitochondrien). Häufig sieht man aufgrund der Schnittführung des Präparates nur Spermienköpfe.

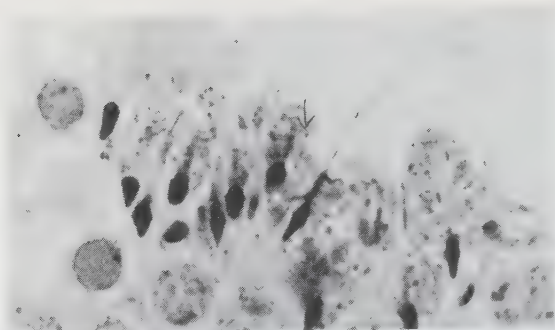


Abb. 22:  
Reife Spermien, wichtigste Merkmale: Pfeilförmige  
Köpfe, Mittelstück, Schwanz.  
Sp 7 = Reifes Spermium  
Färbung: Toluidinblau-Pyronin  
Vergrößerung: 2500-fach

### Die Größe der Zellkerne

Da die Zellgrenzen der Keimzellen nicht immer deutlich sind und ihr Zelleib im Zellverband verschiedenste Formen annehmen kann, wird als Größenmerkmal nicht die ganze Zelle, sondern nur der Kern herangezogen.

Die größten Kerne haben die Spermatocyten I. Ordnung. Fast ebenso groß sind Spermatogonienkerne des Typ 5.

Es folgen dann mit deutlichem Abstand die Kerne der Spermatocyten II. Ordnung (bis  $\frac{2}{3}$  der Größe der Spermatocyten I. Ordnung) und etwa mit gleicher Größe die Kerne der Spermatogonien vom Typ 3 und Typ 4.

Noch kleiner sind die Kerne der Spermatogonien der Gruppe 1 (Typ 1 und 2). Wesentlich kleinere Kerne zeigen dann die Spermatiden der Stufe 1 und 2, die etwa halb so groß wie Spermatocytenkerne I. Ordnung sind.

Die kleinsten Kerne haben die Zellen der fortgeschrittenen Spermiogenese, die praktisch in der Größe den Spermienköpfen entsprechen.

Es ist jedoch besonders zu erwähnen, daß bei den Zell- und Kerngrößen aller Keimzellen gewaltige Schwankungen auftreten können.

Außerdem ist unbedingt zu beachten, daß die Zellkerne oder Zellen sehr klein aussehen können, wenn die Schnittführung des Präparates weit außerhalb des Äquators des Kernes oder der Zelle liegt, was bei der Semidünnschnittmethode mehr ins Gewicht fällt als bei den herkömmlichen Paraffinschnitten. Es könnte dadurch, wenn zwei derartige Zellen unmittelbar nebeneinander liegen, eine frühe Telophase vorgetäuscht werden.

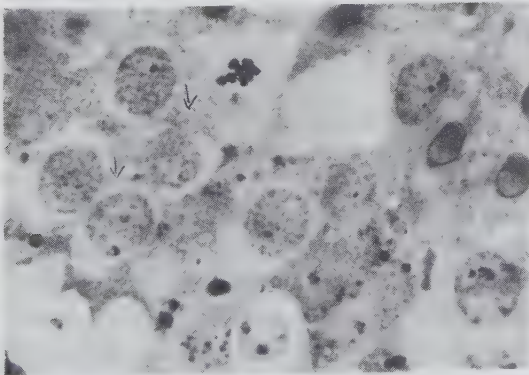


Abb. 23:  
Vorgetäuschte frühe Telophase bei Spermatocyten I.Ordnung  
Typ 1.  
ScI 1 = Spermatocyten I. Ordnung Typ 1  
Färbung:Toluidinblau-Pyronin  
Vergrößerung: 2500-fach

## Zellteilungen

Im Samenepithel laufen zwei Arten von Zellteilungen ab:

Die Mitose und Meiose.

Bei der Mitose der Spermatogonien und der sog. Äquationsteilung der Spermatocyten 2. Ordnung, einer Mitose haploider Zellen bleibt der Chromosomensatz diploid bzw. haploid. Die Meiose der Spermatocyten I. Ordnung hingegen führt vom diploiden zum haploiden Chromosomensatz, weshalb diese Zellteilung Reduktionsteilung genannt wird.

Zellen der lang ausgedehnten meiotischen Prophase sind im Tubulus reichlich zu finden, da alle Spermatocyten I. Ordnung mit Ausnahme von Typ 1 Stufen dieser meiotischen Prophase repräsentieren.

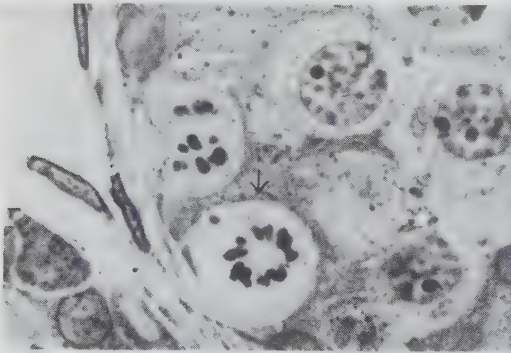
Die unauffällig verlaufende Prophase der Mitose der Spermatogonien konnte nicht beobachtet werden.

Zellen, die eine mitotische oder auch meiotische Metaphase, Anaphase oder auch Telophase darstellen, sind wegen der kurzen Dauer dieser Vorgänge extrem selten zu sehen. Nicht in jedem Tubulusquerschnitt treten entsprechende Zellen auf.

Solche Zellen (bei Spermatogonien und Spermatocyten I. Ordnung beobachtet) sind in der Meta- und Anaphase oft relativ groß.

Cyto- und Caryoplasma sind miteinander verschmolzen (die Kernmembran löst sich gegen Ende der Prophase auf) und erscheinen sehr hell und absolut homogen. In der Zelle finden sich kleine runde Granula in verschiedener Anzahl. Die sehr dunkel gefärbten Chromosomen sind schraubig aufgerollt (Transportform) und erscheinen als intensiv gefärbte, runde bis ovale, plump aussehende Körper in der für die Phase charakteristischen Anordnung. So sieht man

zum Beispiel bei Zellen in der Metaphase deutlich die zur Äquatorialplatte angeordneten Chromosomen. In der frühen Metaphase hingegen sind die dunklen Chromosomen in der Zellmitte haufenartig konzentriert. Bei Zellen in der Anaphase wandern die bereits getrennten Spalthälften der Chromosomen an die beiden Pole der Zelle und liegen in zwei parallelen Reihen, die sich voneinander entfernen.



← M

Abb. 24:

Spermatogonien in der Metaphase: Die Äquatorialplatte ist gut sichtbar.

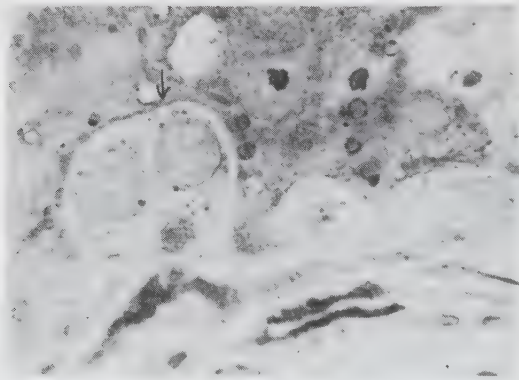
M = Metaphasenplatte

Färbung: Toluidinblau-Pyronin

Vergrößerung: 2500-fach

Die Zellen in der frühen Telophase konnten nicht mit Sicherheit beobachtet werden. Bei Spermatogonien und Spermatiden kommt es vor, daß sich zwei Kerne in einem Zelleib finden. Die Kernmembran, sowie die typischen Merkmale der Kerne, sind bereits voll ausgeprägt.

Da der Cytoplasmakörper noch nicht durchgeschnürt ist, könnte man hier von einer späten Telophase sprechen. Manchmal deutet sich eine beginnende Durchschnürung an, was dem Ende der Telophase entsprechen würde. Die Durchschnürung des Cytoplasmakörpers und die endgültige Bildung zweier Zellen kann besonders bei Spermatogonien und Spermatiden stark verzögert sein. So findet man manchmal Spermatiden der Stufe I und solche der Stufe 2 in einem Zelleib. Die eben beschriebene späte Telophase könnte also vielleicht nur eine verspätete oder aus irgendwelchen Gründen unterbliebene Durchschnürung des Cytoplasmakörpers sein.



← T  
bei Sg 5

Abb. 25:  
Späte Telophase bei Spermatogonien  
T = späte Telophase; zwei Kerne in einem Zelleib.  
Sg. 5 = Spermatogonien Typ 5  
Färbung: Toluidinblau-Pyronin  
Vergrößerung: 2500-fach

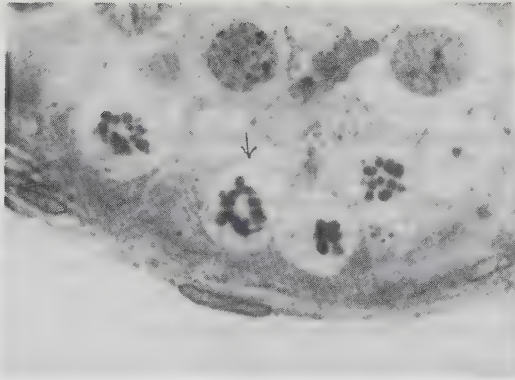


Abb. 26:  
mehrere Spermatogonien in der Metaphase  
M = Metaphasenplatte  
Färbung: Toluidinblau-Pyronin  
Vergrößerung: 2500-fach

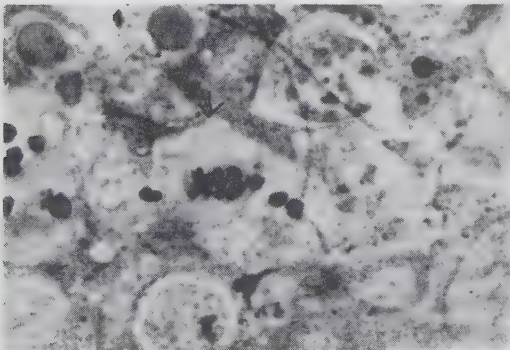


Abb. 27:  
2 parallele Chromosomenreihen (Anaphase) sind gut zu erkennen.  
ChR = Chromosomenreihen  
Färbung: Toluidinblau-Pyronin  
Vergrößerung: 2500-fach

### Semi-Quantitative Analyse des Materials

Nach CLERMONT gibt es im Zyklus des Samenepithels des menschlichen Hodens sechs Stufen. Jede dieser Stufen ist durch ein ganz bestimmtes Zahlenverhältnis der einzelnen Keimzellen zueinander gekennzeichnet.

Eine genaue quantitative Analyse muß daher Material aller sechs Stufen in gleicher Menge enthalten, was nur mit Hilfe von Serienschnitten möglich ist.

Außerdem dürfen nur etwa gleich große, im Schnitt rund erscheinende Tubuli zur Auswertung herangezogen werden, da schräg angeschnittene Tubuli verschiedene Stufen des o.g. zeigen würden.

Diese Kriterien ließen sich hier nicht erfüllen, doch konnte in sechs Fällen durch Auszählung der Zellen von zwölf Tubuli je Fall eine orientierende quantitative Analyse des Materials durchgeführt werden.

Es wurden ausgezählt:

Spermatogonien Typ 1

" Typ 2

" Typ 3

" Typ 4

" Typ 5

Spermatocyten I. Ordnung Typ 1 - 3

" I. Ordnung Typ 4 - 5

Spermatocyten II. Ordnung

Spermatiden Stufe 1 - 4

" Stufe 5 - 7

Die Zahl der ausgezählten Zellen betrug pro Fall zwischen 571 und 1924. Aus den durch Auszählung gewonnenen Zahlen wurden Verhältniszahlen der Keimzellen zueinander für jeden Diagnosefall bestimmt, indem die Anzahl der Spermatogonien vom Typ 1 gleich 1 gesetzt wurde.

Es sollte ein Fall mit normaler Spermatogenese (Verschlußaspermie) mit 5 anderen Fällen mit Hodenparenchymschädigungen verschiedener Art verglichen werden.

Fall 1: Verschlußaspermie, Samenepithel weitgehend normal. Alter des Patienten: 49 Jahre

Verhältniszahlen:

|                           |           |     |       |           |     |
|---------------------------|-----------|-----|-------|-----------|-----|
| Spermatogonien            | I         | II  | III   | IV        | V   |
|                           | 1,0       | 3,1 | 1,8   | 1,4       | 0,4 |
| Spermatocyten I. Ordnung  | Typ 1 - 3 |     |       | Typ 4 - 5 |     |
|                           | 5         |     |       | 2,4       |     |
| Spermatocyten II. Ordnung |           |     |       |           |     |
| 0,6                       |           |     |       |           |     |
| Spermatiden               | 1 - 4     |     | 5 - 7 |           |     |
|                           | 26,0      |     | 8,8   |           |     |

Absolute Zahlen:

Spermatogonien I: 38; insgesamt ausgezählte Zellen 1924.

Fall 2: Schwerer primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden mit Zeichen fortgeschrittener tubulärer Insuffizienz und interstitieller Sklerosierungsneigung. Alter des Patienten: 21 Jahre

Verhältniszahlen:

|                |     |     |     |     |     |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Spermatogonien | I   | II  | III | IV  | V   |
|                | 1,0 | 2,5 | 1,3 | 3,5 | 1,3 |

|                          |           |           |
|--------------------------|-----------|-----------|
| Spermatocyten I. Ordnung | Typ 1 - 3 | Typ 4 - 5 |
|                          | 9,0       | 2,0       |

Spermatocyten II. Ordnung  
0,3

|             |       |       |
|-------------|-------|-------|
| Spermatiden | 1 - 4 | 5 - 7 |
|             | 12,0  | 2,0   |

Absolute Zahlen:

Spermatogonien I: 51; insgesamt ausgezählte Zellen 1778.

Fall 3: Schwerer postpuberaler Hodenparenchymschaden der vorwiegend die Tubulusfunktion betroffen hat. Depopulation, vermehrter Anfall von Degenerationsformen. Alter des Patienten: 33 Jahre.

Verhältniszahlen:

|                |     |     |     |     |     |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Spermatogonien | I   | II  | III | IV  | V   |
|                | 1,0 | 2,6 | 1,1 | 1,6 | 0,0 |

|                          |           |           |
|--------------------------|-----------|-----------|
| Spermatocyten I. Ordnung | Typ 1 - 3 | Typ 4 - 5 |
|                          | 4,9       | 4,1       |

Spermatocyten II. Ordnung  
0,2

|             |       |       |
|-------------|-------|-------|
| Spermatiden | 1 - 4 | 5 - 7 |
|             | 4,8   | 3,5   |

Absolute Zahlen:

Spermatogonien I: 27; insgesamt ausgezählte Zellen 571.

Fall 4: Schwerer postpuberaler Hodenparenchymschaden, der vorwiegend die Spermatogenese betroffen hat. Depopulation, Spermatogeneseverlangsamung. Alter des Patienten: 34 Jahre

Verhältniszahlen:

| Spermatogonien | I   | II  | III | IV  | V   |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                | 1,0 | 0,5 | 1,1 | 1,3 | 0,3 |

| Spermatocyten I. Ordnung | Typ 1 - 3 | Typ 4 - 5 |
|--------------------------|-----------|-----------|
|                          | 4,0       | 2,0       |

Spermatocyten II. Ordnung  
0,2

| Spermatiden | 1 - 4 | 5 - 7 |
|-------------|-------|-------|
|             | 8,0   | 1,0   |

Absolute Zahlen:

Spermatogonien I: 33; insgesamt ausgezählte Zellen 641.

Fall 5: Keine wesentlichen Zeichen einer stärkeren tubulären Insuffizienz, leichte Sklerosierung, subalbugineale Tubuli atrophisch. Alter des Patienten: 32 Jahre.

Verhältniszahlen:

| Spermatogonien | I   | II  | III | IV  | V   |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                | 1,0 | 0,7 | 0,4 | 0,6 | 0,1 |

| Spermatocyten I. Ordnung | Typ 1 - 3 | Typ 4 - 5 |
|--------------------------|-----------|-----------|
|                          | 2,6       | 3,0       |

Spermatocyten II. Ordnung  
0,2

| Spermatiden | 1 - 4 | 5 - 7 |
|-------------|-------|-------|
|             | 8,0   | 1,0   |

Absolute Zahlen:

Spermatogonien I: 56; insgesamt ausgezählte Zellen 984

Fall 6: Primärer postpuberaler Hodenparenchymschaden Tubulus- und Leydigzellfunktion betreffend. Fokale progressiv degenerative Veränderungen. Alter des Patienten: 47 Jahre

Verhältniszahlen:

|                |     |     |     |     |     |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Spermatogonien | I   | II  | III | IV  | V   |
|                | 1,0 | 0,5 | 0,8 | 0,9 | 0,1 |

|                          |           |           |
|--------------------------|-----------|-----------|
| Spermatocyten I. Ordnung | Typ 1 - 3 | Typ 4 - 5 |
|                          | 1,2       | 4,9       |

Spermatocyten II. Ordnung  
0,3

|             |       |       |
|-------------|-------|-------|
| Spermatiden | 1 - 4 | 5 - 7 |
|             | 16,0  | 5,0   |

Absolute Zahlen:

Spermatogonien I: 62; insgesamt ausgezählte Zellen 1904.

Fall 1

- 51 -

Fall 2

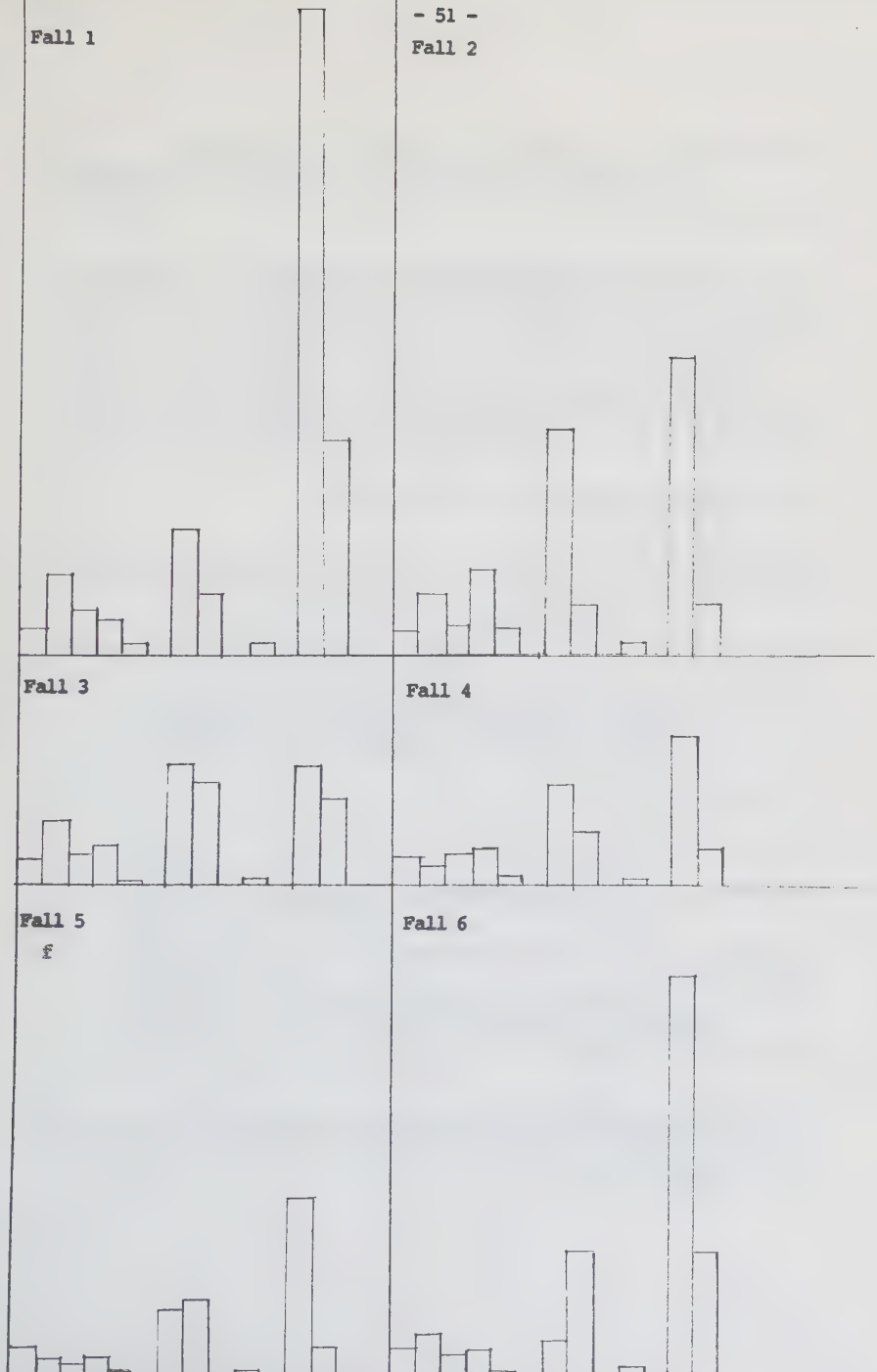
Fall 3

Fall 4

Fall 5

Fall 6

f



### Zahlenverhältnisse der Keimzellen beim nahezu normalen Hoden

(Siehe Tabelle Fall 1)

Spermatogonien: Am häufigsten kommt hier der Typ 2 vor, es folgen Typ 3, Typ 4 und Typ 1. Nur selten ist der Typ 5 zu beobachten.

Spermatocyten I. Ordnung Typ 1 - 3 kommt etwa doppelt sooft vor als Typ 4 und 5. Die Zeit vor dem Pachytän überwiegt also.

Spermatocyten II. Ordnung treten nur selten auf.

Spermatiden Stufe 1 - 4 Spermatiden stehen im Verhältnis zu den reiferen Formen (Stufe 5 - 7) weit im Vordergrund.

Zahlenmäßig am häufigsten im Tubulus sind Spermatiden vorhanden. Es folgen mit großem Abstand Spermatocyten I. Ordnung, dann mit geringerem Abstand Spermatogonien. Nur selten findet man Spermatocyten II. Ordnung (genaue Zahlenverhältnisse siehe Tabelle und graphische Darstellung).

### Zahlenverhältnisse der Keimzellen beim pathologischen Hoden

Spermatogonien: Das Zahlenverhältnis der einzelnen Typen zueinander ist in jedem Fall gestört. Regelmäßig ist ein Abnehmen der Typ 2 Spermatogonien, sowie eine relative Zunahme der Typ 1 Spermatogonien zu beachten.

Spermatocyten I. Ordnung: Das Überwiegen von Typ 1 - 3 gegenüber Typ 4 und 5 kann geringer werden. Es können sogar dann Typ 4 und 5 im Vordergrund stehen.

Spermatocyten II. Ordnung: Diese Zellen kommen hier ebenfalls selten vor.

Spermatiden: Es herrschen auch beim pathologischen Hoden die Stufen 1 - 4 gegenüber reiferen Formen vor, wenngleich sich das Verhältnis etwas zugunsten von Stufen 5 - 7 verschieben kann. Die gesamte Spermioghistogenese ist oft eingeschränkt. Bei verminderter Spermioghistogenese ist die Zahl der Spermatiden etwa nur noch so groß wie die der Spermatocyten I. Ordnung.

#### Weitere Beobachtungen

die über diese quantitative Analyse hinausgehen und sich auf die gesamte Zahl der Diagnosefälle beziehen:

1. In der Spermatogenese scheint es drei Stellen zu geben an denen bevorzugt eine Verlangsamung (bis zum Stop) auftreten kann:
  - a. Mangel an Spermatogonien führt zu allgemein gelichtetem Keimepithel (Extremfall: Sertoli cells only-Syndrom)
  - b. Abbruch oder Verlangsamung nach der Zygotänphase der Spermatocyten I. Ordnung, wobei Typ 1 - 3 im Tubulus dominieren.
  - c. Abbruch oder Verlangsamung der Spermioghistogenese in der Phase der Kopfkappenbildung, wobei sehr viele Spermatiden bis Stufe 2 vorkommen können.
2. Beim schwer pathologischen Hodenparenchym treten folgende Phänomene auf:

- a. Gesteigerter Zelluntergang
- b. Cytoplasmavakuolen in allen Keimzellen und auch Sertolizellen.

## D i s k u s s i o n

Die gesamte Einteilung, die mit Hilfe der Semidünnschnittmethode erarbeitet wurde, ist eine Synthese der bisherigen Einteilungen der Spermatogenese, bei der nun auch lichtmikroskopisch cytoplasmatische Merkmale zur Differenzierung der Zellen herangezogen wurden. Außerdem wurden elektronenmikroskopische Ergebnisse, soweit es hier sinnvoll erschien, mit berücksichtigt.

Mit der beschriebenen Semidünnschnittmethode ist es möglich, verschiedene Zellarten bzw. Zellstufen genauer zu erfassen als mit den herkömmlichen Paraffinschnitten. Sehr vorsichtig muß man jedoch bei der Beurteilung der Zellgröße oder Kerngröße sein, da gleichgroße Zellen bzw. Kerne je nach Schnittführung unterschiedlich groß erscheinen. Diese Tatsache spielt bei der geringen Schnittdicke verständlicherweise eine weit größere Rolle als bei der wesentlich größeren Schnittdicke (3 - 6-fach) der herkömmlichen Paraffinschnitte.

Spermatogonien vom Typ 1 und Typ 2 entsprechen beid dem "dark type A" (CLERMONT). Typ 1 wird bei VILIAR/PAULSEN/MOORE als "flat type spermatogonium" bezeichnet. Die Behauptung von HOLSTEIN, Spermatogonien mit Kernvakuolen (2. Art) träten nur im intakten Samenepithel auf, hat sich nicht bestätigt. Spermatogonien vom Typ 3 und Typ 4 werden bei VILIAR als "round type spermatogonium" bezeichnet. Spermatogonien vom Typ 3 tragen bei CLERMONT die Bezeichnung "pale type A", während Spermatogonien Typ 4 etwa dem "type B" gleichkommt. Typ 5 Spermatogonien werden von ROOSEN-RUNGE und VILIAR, jedoch ohne besonderen Namen, beschrieben, bei HOLSTEIN werden sie als "4. Art von Spermatogonien" bezeichnet. x) (s. auch Tabelle).

Die Spermatocyten I. Ordnung werden den Phasen der meiotischen Prophase entsprechend definiert. Der Typ 1 entspricht in vielen Merkmalen dem "pre-leptotene primary spermatocytes" (CLERMONT).

Bei den Spermatocyten II. Ordnung konnten die von HOLSTEIN und WARTENBERG beschriebenen, konzentrisch um den Kern verlaufenden fädigen Strukturen nachgewiesen werden.

Die Einteilung der Spermiohistogenese erfolgte in Anlehnung an ein Schema von FERNER (1969) sowie eine Untersuchung von CLERMONT (1970). Es wurden sieben typische Stadien beschrieben.

Vergleich der Spermatogoniennomenklatur:

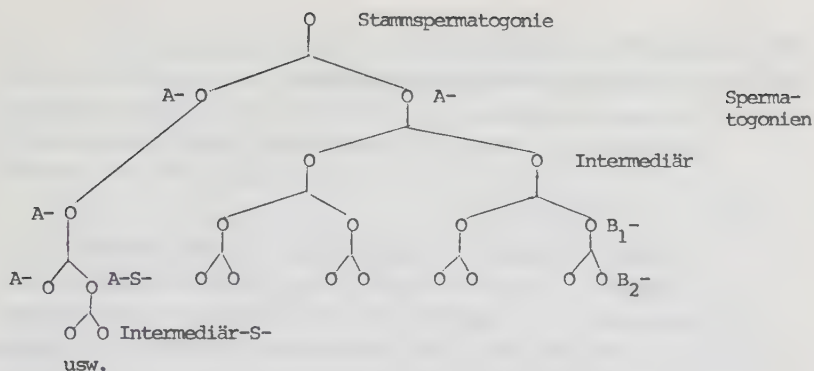
| Autor: | CLERMONT | ROSEN-RUNGE     | MOORE<br>PAULSEN<br>VILLAR                            | HOLSTEIN                     |
|--------|----------|-----------------|-------------------------------------------------------|------------------------------|
| Typ 1  | A dark   | ---             | "flat type"<br>spermatogonia                          | 2. Art von<br>Spermatogonien |
| Typ 2  | A dark   | ---             | "round type"<br>spermatogonia                         | 2. Art von<br>Spermatogonien |
| Typ 3  | A pale   | ---             | "round type"<br>spermatogonia                         | 1. Art von<br>Spermatogonien |
| Typ 4  | B        | ---             | "round type"<br>spermatogonia                         | ---                          |
| Typ 5  | ---      | ohne bes. Namen | Ähnl. der pre-lep-<br>totene primary<br>spermatocytes | 4. Art von<br>Spermatogonien |

Während die sukzessive Einreihung der einzelnen Spermatozytentypen sowie der Zellen der Spermiogénese keine großen Schwierigkeiten macht (deutliche Merkmale der meiotischen Prophase der Spermatozyten I. Ordnung oder fortschreitende Kopfkappenbildung etc. der Spermatiden), trifft das keineswegs für die Spermatogonien zu. Auf ihre Cytodynamik soll nun kurz eingegangen werden.

Welche Stellung die Cytodynamik der Spermatogonien im gesamten Cyclus des Keimepithels einnimmt und welche anderen Zellteilungen mit ihr verlaufen, soll hier nicht näher erläutert werden. Bei verschiedenen Tieren ist dieser Cyclus genau geklärt. Die cytodynamischen Abläufe im menschlichen Keimepithel, die weit komplizierter sind, hat CLERMONT in 6 Stufen eingeteilt. ROOSEN-RUNGE und BARLOW verneinen jedoch eine Wechselbeziehung zwischen den Entwicklungsstufen der Spermatogonien und denen anderer Keimzellen beim Menschen.

LEIDL beschreibt folgende Entwicklungsstufen der Spermatogonien beim Stier:

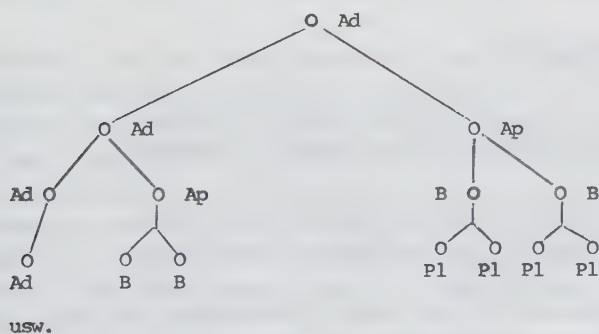
Sog. Stammspermatogonien teilen sich mitotisch. Eine dieser Tochterzellen (A-Spermatogonien) geht eine weitere Mitose ein. Daraus gehen Intermediärspermatogonien hervor. Folgende Mitosen führen zuerst zu  $B_1$ -, dann zu  $B_2$ -Spermatogonien, deren Teilung primäre Spermatozyten ergeben. - Die andere Tochterzelle aus der Stammspermatogonie verhaart gewisse Zeit in einem Ruhestadium und wird deshalb wieder als Stammspermatogonie bezeichnet. Sie beginnt sich erst wieder zu teilen, wenn sich aus der Generation, der mit ihr entstandenen A-Spermatogonie primäre Spermatozyten entwickelt haben.



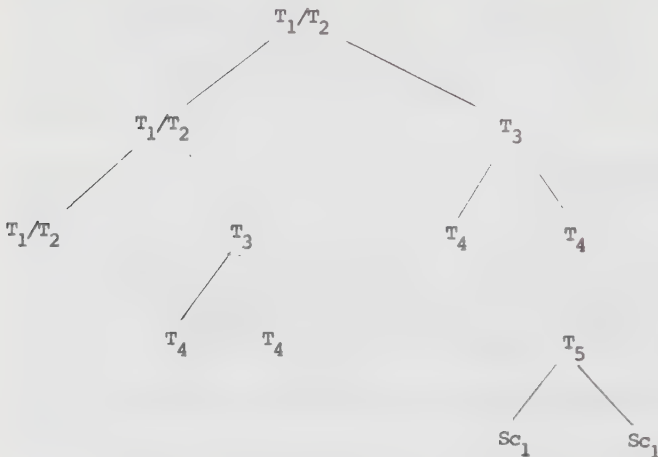
Zu einer ähnlichen Einteilung der Spermatogonienentwicklung kam MERKLE durch Untersuchungen am Rattenhoden. B<sub>1</sub>-Spermatogonien (LEIDL) wurden hier als Übergangs-Spermatogonien bezeichnet.

CLERMONT teilt die Spermatogoniogenese beim Menschen wie folgt ein:

Die A dark-Spermatogonien (Ad) teilen sich mitotisch. Es entstehen daraus A dark- und A pale-Spermatogonien (Ap). Die Mitosen der Ap führen immer zu B-Spermatogonien, deren Teilung "pre-leptotere primary spermatocytes" (Pl) ergibt. - Die Mitosen der Ad (s.o.) ergeben wieder Ad und Ap. Die Ap teilen sich in B-Spermatogonien usw.



Nach diesem Schema von CLERMONT würde sich für die oben aufgestellte Einteilung der Spermatogenese folgendes Bild ergeben:



$T_1$  = Spermatogonien Typ 2

$T_2$  = Spermatogonien Typ 2 etc.

$Sc_1$  = Spermatocyten I. Ordnung, Typ 1

Es wäre folgendes zu klären:

1. Entsprechen Typ 1- oder Typ 2-Spermatogonien dem Typ A dark (CLERMONT), der den Stammzellen (LEIDL/MERKLE) gleichkommt?
2. Sind Typ 1- und Typ 2-Spermatogonien Zellen der gleichen Generation, die sich aber in verschiedenen Stadien befinden?
3. Ist der Spermatogonientyp 5 eine selten zu beobachtende mitotische Prophase der Spermatocyten des Typ 4, oder eine polyploide Zelle?

Diese Fragen konnten durch die semiquantitative Analyse nicht beantwortet werden. Antwort auf diese Fragen könnten eine quantitative Analyse mit mehr Gewebsmaterial sowie bei 3. eine elektronenmikroskopische Untersuchung geben.

Ad 1, 2: VILIARs elektronenmikroskopische Einteilung in flache und runde Spermatogionientypen ist zu undifferenziert, um diese Fragen zu lösen. HOLSTEIN ordnet seine 4 Arten von Spermatogonien cytodynamisch nicht ein. Genaue Parallelen zu den Typen der eigenen Einteilung (außer 4. Art) konnten nicht nachgewiesen werden.

Ad 3: Der Spermatogionientyp 5 wird von VILIAR als Spermatogionientyp gewisser Ähnlichkeit mit den "pre-leptotene primary spermatocytes" bezeichnet. HOLSTEIN nimmt einen Übergang dieser Zellen (Spermatogonien 4. Art) zu Spermatocyten I. Ordnung an.

In seiner 3. Art von Spermatogonien beschreibt HOLSTEIN Caryoplasma-vakuolen, die hier bei Typ 1- und Typ 2-Spermatogonien beobachtet werden konnten. Sie tauchen entgegen der Behauptung von HOLSTEIN auch im geschädigten Samenepithel auf. Möglicherweise handelt es sich hier um besonders differenzierte Spermatogonien.

HOLSTEINs "1. Art von Spermatogonien" zeigt eine Mitochondrienanhäufung um den Kern. Die Mitochondrien sind miteinander teilweise verbunden. Eine perinucleäre Häufung von Cytoplasmagranula konnte bei Typ 3 Spermatogonien, im geringeren Maße auch bei anderen Spermatogionientypen beobachtet werden. Diese perinucleär gehäuftten Cytoplasmagranula dürften den von HOLSTEIN erwähnten Mitochondrien entsprechen. - Die Einteilungen der Spermatogonien nach CLERMONT (A dark, A pale, B) und VILIAR (Runde, flache und "Spermatocyten-ähnliche") wurden bereits erwähnt.

Die Einteilung der Spermatocyten I. Ordnung in verschiedene Typen erfolgte wie bei allen anderen Autoren nach den einzelnen Stufen der meiotischen Prophase.

Die "pre-leptotere primary spermatocytes" entsprechen im wesentlichen dem Typ 1 der Spermatocyten. - Ein "Akrosomenkorn" (FERNER) konnte bei Spermatocyten I. Ordnung nur selten beobachtet werden. Die Spermatocyten II. Ordnung sind vor allem wegen ihrer Größenverhältnisse leicht zu erkennen. Im Semidünnschnitt kann ein weiteres charakteristisches Merkmal nachgewiesen werden: Die von HOLSTEIN beschriebenen fädigen Cytoplasmastrukturen, die konzentrisch um den Kern verlaufen und meistens gut zu sehen sind.

CLERMONT teilt die Spermioghistogenese in 3 Phasen ein: Golgi-Phase, Cap-Phase, Akrosomic-Phase. Zellen sämtlicher 3 Phasen, die hier in 7 Stufen unterteilt wurden, konnten deutlich nachgewiesen werden. VILIARs Beschreibung der Spermioghistogenese in 5 Stufen (A, B, C, D, D<sub>2</sub>) entspricht der o. g. Einteilungen, enthält aber zusätzliche lichtmikroskopisch nicht verwertbare, elektronenmikroskopische erfaßte Details.

Die durchgeführten Untersuchungen stimmen, was die Beschreibung der Spermatocyten I. und II. Ordnung, sowie die Spermioghistogenese betrifft, mit denen anderer Autoren weitgehend überein.

Teils erhebliche Unterschiede ergaben sich jedoch, wie schon erwähnt, bei der Beschreibung und Einteilung der Spermatogonien. Aus cytomorphologischen Gründen mußten sie in 5 Typen eingeteilt werden, während CLERMONT 3 Typen, VILIAR ebenfalls 3 Typen und HOLSTEIN 4 Typen unterscheidet. Diese Typen der verschiedenen Autoren überschneiden sich oft stark, wenngleich sie niemals identisch sind. ROOSEN-RUNGE und BARLOW z.B. lehnen eine Differenzierung in A- und B-Spermatogonien ab, da

eine solche mit den herkömmlichen Paraffinschnitten und der damit verbundenen schlechteren Beurteilbarkeit der Zellkriterien nicht möglich war.

Die Unterschiede haben ihre Ursache in der Polymorphie der Spermato-  
gonien, sowie in der nicht ganz geklärten Cytodynamik dieser Zellart.

## Z u s a m m e n f a s s u n g

Gewebsmaterial von 16 Hodenbiopsien wird fixiert, entwässert und in den Kunststoff Epon 812 eingebettet. Von den Präparaten werden 1  $\mu$  dicke Semidünnschnitte angefertigt, die mit Toluidinblau-Pyronin gefärbt werden.

Es wird mit Hilfe dieser Präparate eine lichtmikroskopische Einteilung der Spermatogenese vorgenommen, die sich nicht nur auf caryoplasmatische sondern auch auf cytoplasmatische Merkmale der Zellen des Keimepithels stützt. Die lichtmikroskopischen Einteilungen von CLERMONT und ROSEN-RUNGE beziehen sich hingegen nur auf caryoplasmatische Kriterien dieser Zellen, da die herkömmlichen Präparate (Paraffineinbettung) infolge ihrer hohen Schnittdicke Differenzierungen bezüglich der Beschaffenheit des Cytoplasmas nicht zulassen.

Außerdem wird in einer grob orientierenden Analyse das Zahlenverhältnis der einzelnen Keimzellen zueinander bestimmt, ferner wird nahezu normales Hodenparenchym fünf pathologischen Hoden gegenübergestellt.

Es findet sich folgende Einteilung der Spermatogenese nach Zelltypen:

Spermatogonien vom Typ 1: Die länglichen, nierenförmigen, oder polygonalen Kerne zeigen dunkles Caryoplasma und eine gefältelte Kernmembran. Das Cytoplasma ist meist relativ dunkel.

Spermatogonien vom Typ 2: Das Caryoplasma der runden oder ovalen Kerne ist dunkel, die Kernmembran stets glatt. Das Cytoplasma ist heller als bei Typ 1.

Spermatogonien vom Typ 3: Die Kerne sind rund, das Caryoplasma hell und fein granuliert. Das helle Cytoplasma zeigt feine Granula die verschieden angeordnet sein können, häufig aber perinucleär liegen.

Spermatogonien vom Typ 4: Die verschieden großen Kerne sind rund, das grob granulierte Caryoplasma ist hell und enthält Chromatinverdichtungen verschiedener Form. Im Cytoplasma findet man feine Granula.

Spermatogonien vom Typ 5: Die Kerne sind groß und rund, das Caryoplasma hell und deutlich granuliert. Die Cytoplasmastrukturen verhalten sich wie bei den anderen Spermatogonientypen.

Spermatocyten I. Ordnung Typ I: Die runden Kerne zeigen grob granuliertes Caryoplasma sowie eine sehr zarte Kernmembran.

Spermatocyten I. Ordnung Typ 2L: Im hellen Caryoplasma finden sich fädige Strukturen (Leptotän). Das Cytoplasma ist sehr hell.

Spermatocyten I. Ordnung Typ 3Z: Die Caryoplasmastrukturen sind grobfädig (Zygotän). Im Cytoplasma treten zahlreiche Granula auf.

Spermatocyten I. Ordnung Typ 4 P: Im Caryoplasma fallen breite Chromatinstränge (Pachytän) sowie große und scharf begrenzte Nucleoli auf. Das Cytoplasma ist dunkler und von zahlreichen perinucleären Granula durchsetzt.

Spermatocyten I. Ordnung Typ 5 D: Die dunkle Kernmembran ist dick und gleichmäßig. An ihrer Innenseite zeigen sich kleine blockförmige Chromatinverdichtungen (Diplotän). Das Cytoplasma erscheint dunkler als bei anderen Typen und enthält viele Granula.

Spermatocyten II. Ordnung: Sie kommen in sehr geringer Anzahl im Samenepithel vor. Die Kerne sind rund, das fein granulierte Caryoplasma ist dunkel. Das Cytoplasma ist hell und weist fädige Strukturen auf die konzentrisch um den Kern verlaufen.

Spermatiden 1. Stufe: Die Kerne sind klein, rund und dunkel gefärbt. Das Cytoplasma ist hell.

Spermatiden 2. Stufe: Das Caryoplasma entspricht dem der 1. Stufe. Im Cytoplasma tritt die Akrosomenvakuole auf, wodurch die Kernmembran eingedellt erscheint. Im Cytoplasma findet man feine Granula.

Spermatiden 3. Stufe: Die Kerne sind oval, sie zeigen Kopfkappenbildung. Das Cytoplasma ist schwer abzugrenzen. Eine polare Anordnung von Cytoplasmagranula gegenüber der Kopfkappe fällt auf.

Spermatiden 4. Stufe: Die Kerne sind paddelförmig, ihr Caryoplasma wird zunehmend dunkler, sie liegen peripher im schwer abgrenzbaren Cytoplasma, wo sich beginnende fadenförmige Schwanzstrukturen konfigurieren.

Spermatiden 5. Stufe: Der Zellkern ist wieder oval, die Kopfkappe vom dunklen Caryoplasma nun nicht mehr zu trennen. Im Cytoplasma treten deutliche Schwanzstrukturen auf; Schwanzfaden und Schwanzrohr.

Spermatiden 6. Stufe: Die Kerne sind spitz. Im Cytoplasma ist das Schwanzrohr gut zu sehen.

Spermien: Das Cytoplasma ist abgestoßen. Die Spermienköpfe sind pfeilförmig. An den Kopf schließt sich das Mittelstück an, das die Mitochondrien enthält. Nach dem Mittelstück folgt der Schwanz.

Eine semiquantitative Analyse des Materials wird durchgeführt. 6 Biopsiefälle liefern das Material für diese Analyse, die das Verhältnis der einzelnen Keimzellen zueinander zeigt und außerdem einen Vergleich dieser 6 Fälle ermöglicht. Es werden pro Diagnosefall je 12 Tubuli ausgezählt und die Anzahl der Spermatogonien vom Typ 1 wird gleich 1 gesetzt. Die absolute Zahl der verschiedenen Zellen wird durch eine entsprechende Verhältniszahl ersetzt.

Beim nahezu normalen Hoden kommt bei den Spermatogonien am häufigsten der Zelltyp 2 vor. Bei den Spermatocyten I. Ordnung überwiegen die Typen 1 - 3, also Typen der Zeit vor dem Pachytän. Spermatocyten II. Ordnung treten selten auf. Die Spermatiden der 1. - 4. Stufe stehen im Verhältnis zu denen

der 5. - 7. Stufe im Vordergrund. - Zahlenmäßig am häufigsten sind die Spermatiden im Tubulus vorhanden.

Bei den pathologischen Diagnosefällen sind die Zahlenverhältnisse der einzelnen Zelltypen zueinander in jedem Fall gestört. Allgemeine Grundsätze für die Art der Verschiebung der Zahlenverhältnisse können nicht aufgestellt werden, obwohl es drei Stellen zu geben scheint an denen bevorzugt eine Verlangsamung der Spermatogenese eintreten kann:

1. allgemeiner Mangel an Zellen der Spermatogenese.
2. Abbruch nach der Zygotänphase der Spermatocyten I. Ordnung.
3. Verlangsamung der Spermiotogenese in der Phase der Kopfkappenbildung.

Die Einteilung und Beschreibung der Zellen der Spermatogenese stellt eine Arbeitsgrundlage für genaue quantitative Analysen sowie für cytodynamische Studien dar. Das Problem cytodynamischer Fragen wurde am Beispiel der Spermatogoniogenese aufgeworfen. Ein Versuch der Klärung war im Rahmen dieser in erster Linie cytomorphologischen Arbeit nicht möglich.

L I T E R A T U R

-----

- BLOOM, W., D.W.FAWCETT: A Textbook of Histology, pp. 522 - 567  
W.B. Sounder Co. Philadelphia-London, 1968.
- CHIARELLI, B.: Spermatogenesis in Man.  
Fertil. Steril. 19, 758 - 765, 1958
- CLERMONT, Y.: The Cycle of the Seminiferous Epithelium in Man.  
Amer.J.Anat. 112, 35 - 45, 1963
- CLERMONT, Y.: Renewal of Spermatogonia in Man.  
Amer.J.Anat. 118, 509 - 524, 1966
- CLERMONT, Y.: Dynamics of Human Spermatogenesis.  
The Human testis (ed. by E. Rosenberg, C.A.Paulsen)  
Advances Exper. Med. Biology 10, 47 - 61, 1970
- FERNER, H.: Mikroskopische Anatomie des Hoden und der ableitenden Samenwege.  
In: Handb. Urol. (hrsg. von C.E.Alken, V.W.Dix, W.E. GOODWIN, E.WILDHOLZ) pp. 423 - 439,  
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1969
- HILSCHER, W.: Beiträge zur Orthologie und Pathologie der "Spermatogoniogenese" der Ratte.  
Fortschr. Med. 19, 721 - 723, 1966
- HOLSTEIN, A.F., U.WULFHEKEL: Die Semidünnschnitttechnik als Grundlage für eine Beurteilung der Spermatogenese des Menschen.  
Andrologie 3, 65 - 69, 1971
- HOLSTEIN, A.F., E.HORSTIMANN: On the Cytomorphology of Human Spermatogenesis.  
Fortschr. Andrology 2, Suppl. Morphological Aspects of Andrology, pp 8 - 12, 1970
- HORSTIMANN, E.: Structures of Caryoplasm during the Differentiation of Spermatids.  
Fortschr. Andrology 2, Suppl. Morphological Aspects of Andrology. pp 24 - 26, 1970

- JOHNSEN, S.G.: Two Types of Sertoli Cells in Man.  
Acta Endocrinol. (Copenh.) 61, 111 - 116, 1969
- LEIDL, W.: Steuerung und Beeinflussung der Samenbildungsprozesse.  
Zschr. f. Tierzucht. u. Züchtungsbiologie 84, 273-289, 1968
- MERKLE, U.: Volumetrische Befunde an den Samenzellen und Sertolizellen der Ratte.  
Z. mikr.-anat.Forsch. 63/2, 252 - 273, 1957
- OHNO, S.: Morphological Aspects of Meiosis and Their Genetical Significance.  
The Human testis (ed. by E.Rosenberg, C.A.Paulsen)  
Advances Exp. Med. Biol. 10, 115 - 125, 1970
- ROOSEN-RUNGE, E., F.BARLOW: Quantitative Studies on Human Spermatogenesis.  
Amer. J. Anat. 93, 143 - 169, 1953
- TONUTTI, E., O.WELLER, E.SCHUCHARDT, E.HEINKE: Zur Anatomie des Hodens.  
In: Die männliche Keimdrüse. pp. 7 - 21  
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1960
- VILIAR, O., A.PAULSEN, D.J.MOORE: Electron Microscopy of Human Seminiferous Tubules.  
In: The Human testis (ed. by E.Rosenberg, C.A.Paulsen)  
Plenum Press N.Y., 1970  
Advances Exp. Med. Biol. 10, 63 - 74, 1970

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor  
Dr. med. O. Hornstein für die freundliche  
Überlassung des Themas.

Für die verständnisvolle Förderung und die  
wertvollen Hinweise bei der Ausführung der  
Arbeit gilt ihm mein aufrichtiger Dank, wie  
auch besonders Herrn Oberarzt Dr.med. N. Hofmann,  
Herrn Dr. med. G. Schmid, sowie Herrn Tomek für  
die Anfertigung der Fotos.

## Lebenslauf

Am 4.7.1945 wurde ich als Sohn des Zollsekretärs Josef Multerer und seiner Ehefrau Therese, geb. Natterer in Simbach/Inn geboren.

Von September 1951 bis Juli 1956 besuchte ich dort die Volksschule. Im September 1956 trat ich in die Oberrealschule Simbach/Inn über, wo ich im Juli 1965 die Reifeprüfung ablegte.

Anschließend leistete ich in Günzburg 13 Monate Wehrdienst ab.

Am 3. November 1966 begann ich an der Friedrich Alexander Universität Erlangen-Nürnberg mit dem Studium der Medizin. Das Vorphysikum im Oktober 1967, das Physikum im Juli 1969 sowie das Staatsexamen von Juli 1972 bis Februar 1973 bestand ich jeweils mit der Gesamtnote "sehr gut". Seit Dezember 1970 arbeite ich bei Herrn Professor Hornstein an dieser Dissertation.





## **Offsetdruck-Fotodruck**

**J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990**